

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
CHƯƠNG TRÌNH KHCN CẤP QUỐC GIA GIAI ĐOẠN 2016-2020
KHCN-TN/16-20**

**“Khoa học và công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội Tây Nguyên
trong liên kết vùng và hội nhập quốc tế”**

(Chương trình Tây Nguyên 2016-2020)

BÁO CÁO TỔNG HỢP

KẾT QUẢ ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP QUỐC GIA

**NGHIÊN CỨU HOÀN THIỆN CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT
CHẾ PHẨM VI SINH CAFE HTD-01 VÀ HOTIEU HTD-03
VÀ SỬ DỤNG TÍCH HỢP CÁC CHẾ PHẨM SINH, HÓA
HỌC NHẪM PHÁT TRIỂN HIỆU QUẢ VÀ BỀN VỮNG
CÂY CÀ PHÊ VÀ HỒ TIÊU Ở TÂY NGUYÊN
MÃ SỐ: TN16/C02 (2016 – 2020)**

Chủ nhiệm đề tài: TS. HÀ VIỆT SƠN

Cơ quan chủ trì: Trung tâm Phát triển công nghệ cao

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam



VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
CHƯƠNG TRÌNH KHCN CẤP QUỐC GIA GIAI ĐOẠN 2016-2020
KHCN-TN/16-20

“Khoa học và công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội vùng Tây Nguyên trong
liên kết vùng và hội nhập quốc tế”

(Chương trình Tây Nguyên 2016-2020)

BÁO CÁO TỔNG HỢP

KẾT QUẢ ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP QUỐC GIA

**NGHIÊN CỨU HOÀN THIỆN CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT
CHẾ PHẨM VI SINH CAFE HTD-01 VÀ HOTIEU HTD-03
VÀ SỬ DỤNG TÍCH HỢP CÁC CHẾ PHẨM SINH, HÓA
HỌC NHẪM PHÁT TRIỂN HIỆU QUẢ VÀ BỀN VỮNG
CÂY CÀ PHÊ VÀ HỒ TIÊU Ở TÂY NGUYÊN
MÃ SỐ: TN16/C02 (2016 – 2020)**

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI



TS. HÀ VIỆT SƠN

TRUNG TÂM PHÁT TRIỂN
CÔNG NGHỆ CAO



TỔNG GIÁM ĐỐC

Nguyễn Văn Thọ

CHƯƠNG TRÌNH TÂY NGUYÊN
2016-2020

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM



TS. NCVCC. Nguyễn Đình Kỳ



HÀ NỘI – 2021

Đặng Xuân Phong

Lời cảm ơn

Tập thể cán bộ thực hiện Đề tài: TN16/C02 xin chân thành cảm ơn Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Văn phòng và Ban chủ nhiệm Chương trình KH&CN cấp quốc gia KHCN-TN/16-20 "Khoa học và công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội Tây Nguyên trong liên kết vùng và hội nhập" đã tin tưởng giao nhiệm vụ thực hiện Đề tài.

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Lãnh đạo Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Trung tâm Phát triển công nghệ cao, Viện Công nghệ sinh học và Viện ITC đã có những quan tâm sâu sắc, chỉ đạo thường xuyên và tạo điều kiện thuận lợi trong quá trình thực hiện Đề tài.

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Chi cục Bảo vệ thực vật, Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn các tỉnh Lâm Đồng và Đắk Lắk đã hợp tác và tạo điều kiện thuận lợi trong quá trình thực hiện các mô hình canh tác thử nghiệm.

Chúng tôi xin cảm ơn sự hợp tác và hỗ trợ của Viện Công nghệ sinh học, Viện nghiên cứu khoa học Miền Trung, Viện nghiên cứu vật liệu ứng dụng, Trường Đại học Đà Lạt, Viện Di truyền Nông nghiệp.

Chúng tôi xin cảm ơn sự hợp tác, giúp đỡ của lãnh đạo địa phương và các gia đình đồng bào Tây Nguyên có vườn tham gia thực hiện thí nghiệm.

Chúng tôi cũng xin cảm ơn sự hợp tác có hiệu quả của các cơ quan trong và ngoài Trung tâm Phát triển công nghệ cao cũng như những cố gắng của tập thể cán bộ tham gia thực hiện đề tài.

TM/Tập thể cán bộ nghiên cứu

TS. Hà Việt Sơn

DANH SÁCH TẬP THỂ CÁN BỘ THAM GIA THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

TT	Họ và tên	Cơ quan
1.	TS. Hà Việt Sơn	Trung tâm Phát triển công nghệ cao
2.	PGS.TS. Trần Đình Mấn	Viện Công nghệ sinh học
3.	ThS. Đỗ Thị Gấm	Trung tâm Phát triển công nghệ cao
4.	ThS. Nguyễn Thị Thu	Trung tâm Phát triển công nghệ cao
5.	ThS. Phan Thị Lan Anh	Trung tâm Phát triển công nghệ cao
6.	ThS. Nguyễn Thị Hồng Hà	Viện Công nghệ sinh học
7.	PGS.TS. Phạm Việt Cường	Viện Nghiên cứu khoa học Miền Trung
8.	GS.TS. Nguyễn Cửu Khoa	Viện Khoa học vật liệu ứng dụng
9.	PGS. TS. Phạm Bích Ngọc	Viện Công nghệ sinh học
10.	TS. Chu Nhật Huy	Viện Công nghệ sinh học

Hà Nội, ngày tháng 12 năm 2020

BÁO CÁO THỐNG KÊ KẾT QUẢ THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

I. THÔNG TIN CHUNG

1. Tên đề tài: Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh CAFE HTD-01 và HOTIEU HTD-03 và sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh, hóa học nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên.

Mã số đề tài: TN16/C02

Thuộc Chương trình: Khoa học và công nghệ cấp quốc gia giai đoạn 2016 - 2020: “Khoa học và công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội Tây Nguyên trong liên kết vùng và hội nhập quốc tế”

Mã số: KHCVN-TN/16-20.

2. Chủ nhiệm đề tài:

Họ và tên: Hà Việt Sơn

Ngày, tháng, năm sinh: 27/5/1979

Nam/Nữ: Nam

Học hàm, học vị: TS

Chức danh khoa học: NCV

Chức vụ: Trưởng phòng

Điện thoại: 0916.987979

Tổ chức: 024.37916281;

Mobile: 0986867359

Fax: 024.37916283;

E-mail: havietson@gmail.com

Tên tổ chức đang công tác: Trung tâm Phát triển công nghệ cao.

Địa chỉ tổ chức: Số 18 Hoàng Quốc Việt, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội

Địa chỉ nhà riêng: Số 9, Đội Cung, P. Lê Đại Hành, Q Hai Bà Trưng, TP. HN

3. Tổ chức chủ trì đề tài:

Tên tổ chức chủ trì đề tài: Trung tâm Phát triển công nghệ cao

Điện thoại: 024.3791 6281

Fax: 024.3791 6283

E-mail: vanthu@htd.vast.vn;

Website: <http://htd.ac.vn>

Địa chỉ: Tầng 9 nhà A28, số 18B Hoàng Quốc Việt, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội.

Họ và tên thủ trưởng tổ chức: TS. Nguyễn Văn Thao

Số tài khoản: 3713.1.1095880 tại Kho bạc Nhà nước Tây Hồ, Hà Nội

Tên cơ quan chủ quản đề tài: Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ VN

II. TÌNH HÌNH THỰC HIỆN

1. Thời gian thực hiện đề tài:

Theo Hợp đồng đã ký kết : từ tháng 12/2016 đến tháng 12/2019.

Thực tế thực hiện : từ tháng 12/2016 đến tháng 11/2020.

Được gia hạn : 11 tháng.

- Lần 1: từ tháng 1 năm 2020 đến hết tháng 06 năm 2020.

- Lần 2: từ tháng 7 năm 2020 đến hết tháng 11 năm 2020.

2. Kinh phí và sử dụng kinh phí:

a) Tổng số kinh phí thực hiện: 11.854 triệu đồng, trong đó:

- Kinh phí hỗ trợ từ SNKH: 11.854 triệu đồng.

- Kinh phí từ các nguồn khác: Không

- Tỷ lệ và kinh phí thu hồi đối với dự án (nếu có): Không

b) Tình hình cấp và sử dụng kinh phí từ nguồn SNKH:

Số TT	Theo kế hoạch		Thực tế đạt được		Ghi chú (Số đề nghị quyết toán)
	Thời gian (Tháng, năm)	Kinh phí (đồng)	Thời gian (Tháng, năm)	Kinh phí (đồng)	
1	31/12/2016	1.600.000.000			
2	18/08/2017	4.134.204.000	15/08/2017	811.286.600	
3	12/04/2018	4.007.600.000	19/04/2018	3.325.655.787	
4	27/04/2018	302.400.000	22/04/2019	3.139.144.763	
5	23/04/2019	1.809.796.000	24/04/2020	3.628.397.800	
6			25/12/2020	818.841.650	
	Tổng cộng	11.854.000.000		11.723.326.600	130.673.400

c) Kết quả sử dụng kinh phí theo các khoản chi:

Đơn vị tính: đồng

STT	Nội dung các khoản chi	Theo kế hoạch			Sau điều chỉnh kinh phí			Thực tế đạt được		
		Tổng	SNKH	Nguồn khác	Tổng	SNKH	Nguồn khác	Tổng	SNKH	Nguồn khác
1	Trả công lao động (khoa học, phổ thông)	4.894.365.300	4.894.365.300		4.894.365.300	4.894.365.300		4.894.256.400	4.894.256.400	
2	Nguyên, vật liệu, năng lượng	4.964.330.000	4.964.330.000		4.966.228.000	4.966.228.000		4.939.413.500	4.939.413.500	
3	Thiết bị, máy móc	307.000.000	307.000.000		307.000.000	307.000.000		216.000.000	216.000.000	
4	Xây dựng, sửa chữa nhỏ									
5	Chi khác	1.688.304.700	1.688.304.700		1.686.406.700	1.686.406.700		1.673.656.700	1.673.656.700	
6	Trích quỹ trả về văn phòng Chương trình Tây Nguyên 2016 - 2020	0	0		0	0		58.907.250	58.907.250	
7	Trích quỹ cơ quan chủ trì đề tài	0	0		0	0		71.766.150	71.766.150	
Tổng cộng		11.854.000.000	11.854.000.000		11.854.000.000	11.854.000.000		11.854.000.000	11.854.000.000	

Lý do thay đổi theo các công văn và tờ trình:

Tờ trình ngày 27/4/2020 của đề tài mã số TN16/C02 trình Tổng giám đốc Trung tâm Phát triển công nghệ cao về việc xin điều chỉnh dự toán của 4 buổi họp nghiệm thu khảo nghiệm điều chỉnh sang 3 buổi họp nghiệm thu quy trình và kinh phí photo, in ấn các báo cáo tổng kết của đề tài.

Hiện tại kinh phí chưa sử dụng của đề tài gồm các nội dung sau:

- Công lao động còn 108.900 đồng do cơ quan chủ trì chi thuê thu nhập cá nhân thiếu cho cán bộ thực hiện đề tài.

- Kinh phí không khoán tiết kiệm từ các gói thầu là: 26.814.500 đồng.

- Kinh phí không khoán của mục thuê thiết bị lên men và thiết bị nhân giống là: 91.000.000 đồng (kinh phí thuê thiết bị là nồi lên men trong quá trình triển khai đề tài cơ quan chủ trì đề tài đã được đầu tư hệ thống lên men từ dự án Khu nông nghiệp công nghệ cao tại tỉnh Đắk Lắk, nên kinh phí thuê thiết bị này không sử dụng).

- Kinh phí khoán chi nghiệm thu các quy trình của đề tài là: 12.750.000 đồng.

Tổng kinh phí thuộc phần không khoán hiện tại chưa sử dụng là: 26.814.500 đồng + 91.000.000 đồng = 117.814.500 đồng. (50% số kinh phí này là 58.907.250 đồng sẽ trích về Văn phòng Chương trình Tây Nguyên giai đoạn 2016-2020, số kinh phí còn lại 58.907.250 đồng sẽ trích vào quỹ của cơ quan chủ trì).

Tổng kinh phí thuộc phần khoán chi hiện tại chưa sử dụng là: 108.900 đồng + 12.750.000 đồng = 12.858.900 đồng sẽ trích toàn bộ vào quỹ của cơ quan chủ trì.

3. Các văn bản hành chính trong quá trình thực hiện đề tài/dự án:

(Liệt kê các quyết định, văn bản của cơ quan quản lý từ công đoạn xác định nhiệm vụ, xét chọn, phê duyệt kinh phí, hợp đồng, điều chỉnh (thời gian, nội dung, kinh phí thực hiện... nếu có); văn bản của tổ chức chủ trì đề tài, dự án (đơn, kiến nghị điều chỉnh ... nếu có)

STT	Số, thời gian ban hành văn bản	Tên văn bản	Ghi chú
1	Quyết định số 2001/QĐ-VHL ngày 6/12/2016 của Chủ tịch Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam	Phê duyệt hội đồng tư vấn xét giao trực tiếp tổ chức đăng ký thực hiện đề tài KH và CN cấp quốc gia thuộc Chương trình Tây Nguyên giai đoạn 2016-2020, bắt đầu thực hiện từ năm 2016	
2	Quyết định số 2060/QĐ-VHL ngày 13/12/2016 của Chủ tịch Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam	Phê duyệt điều chỉnh danh mục đề tài khoa học và công nghệ đặt hàng cấp quốc gia thuộc Chương trình Tây Nguyên giai đoạn 2016-2020, bắt đầu thực hiện từ năm 2016	
3	Quyết định số 2061/QĐ-VHL ngày 13/12/2016 của Chủ tịch Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam và Biên bản thẩm định kinh phí ngày 17/12/2016	Quyết định thành lập tổ thẩm định kinh phí các đề tài KH và CN cấp quốc gia thuộc Chương trình Tây Nguyên giai đoạn 2016-2020, bắt đầu thực hiện từ năm 2016	
4	Quyết định số 2162/QĐ-VHL ngày 29/12/2016 của Chủ tịch Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam	Về việc phê duyệt tổ chức và cá nhân chủ nhiệm, kinh phí, phương thức khoán chi và thời gian thực hiện các đề tài khoa học và công nghệ cấp quốc gia thuộc Chương trình Tây Nguyên giai đoạn 2016-2020	
5	Hợp đồng số 05/2016/HĐ-TN16/C02-KHCN-TN/16 ngày 29/12/2016	Về việc thực hiện đề tài Khoa học và Công nghệ mã số TN16/C02	
6	Quyết định số 503/QĐ-PTCNC ngày 29/12/2017 của Tổng Giám đốc Trung tâm Phát triển công nghệ cao	Về việc Phê duyệt thay đổi thành viên tham gia thực hiện công việc nghiên cứu 2.5; 4.4 và các công việc của nội dung 5 thuộc đề tài mã số TN16/C02.	
7	Quyết định số 180/QĐ-VHL ngày 09/02/2018 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam	Về việc đính chính thông tin trong thuyết minh đề tài mã số TN16/C02	
8	Tờ trình ngày 09/8/2018 của đề tài mã số TN16/C02	Về việc xin điều chỉnh địa điểm đi công tác (của đơn vị nhánh là Viện Nghiên cứu khoa học Miền trung)	

STT	Số, thời gian ban hành văn bản	Tên văn bản	Ghi chú
9	Quyết định số 530/QĐ-PTCNC ngày 25/12/2018 của Tổng Giám đốc Trung tâm Phát triển công nghệ cao	Về việc phê duyệt thay đổi thành viên thực hiện chuyên đề của đề tài mã số TN16/C02 (của đơn vị nhánh là Viện Nghiên cứu khoa học Miền trung)	
10	Quyết định số 475/QĐ-PTCNC ngày 10/10/2019 của Tổng Giám đốc Trung tâm Phát triển công nghệ cao	Về việc thành lập hội đồng đánh giá nghiệm thu cấp cơ sở các mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh, hóa chọ nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê ở Tây Nguyên của đề tài mã số TN16/C02.	
11	Quyết định số 2092/QĐ-VHL ngày 29/11/2019 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam	Về việc gia hạn thời gian thực hiện đề tài mã số TN16/C02 thuộc Chương trình Tây Nguyên 2026-2020 (Gia hạn lần 1).	
12	Quyết định số 02/QĐ-PTCNC ngày 03/1/2020 của Tổng Giám đốc Trung tâm Phát triển công nghệ cao	Về việc thành lập hội đồng đánh giá nghiệm thu cấp cơ sở các mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh, hóa chọ nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây hồ tiêu ở Tây Nguyên của đề tài mã số TN16/C02.	
13	Tờ trình ngày 27/4/2020 của đề tài mã số TN16/C02.	Về việc xin điều chỉnh dự toán kinh phí khoán thuộc phần chi khác của đề tài mã số TN16/C02.	
14	Quyết định số 1055/QĐ-VHL ngày 30/6/2020 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam	Về việc Gia hạn thời gian thực hiện đề tài mã số TN16/C02 thuộc Chương trình Tây Nguyên 2016-2020 (Gia hạn lần 2).	
15	Quyết định số 409/QĐ-PTCNC ngày 20/10/2020 của Tổng Giám đốc Trung tâm Phát triển công nghệ cao	Về việc thành lập Hội đồng đánh giá nghiệm thu cấp cơ sở các quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học của đề tài mã số TN16/C02.	
16	Quyết định số 410/QĐ-PTCNC ngày 20/10/2020 của Tổng Giám đốc Trung tâm Phát triển công nghệ cao	Về việc thành lập Hội đồng đánh giá nghiệm thu cấp cơ sở các quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh và phân bón nhả chậm của đề tài mã số TN16/C02.	
17	Quyết định số 411/QĐ-PTCNC ngày 20/10/2020 của Tổng Giám đốc Trung tâm Phát triển công nghệ cao	Về việc thành lập Hội đồng đánh giá nghiệm thu cấp cơ sở các quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 của đề tài mã số TN16/C02.	

4. Tổ chức phối hợp thực hiện đề tài, dự án:

STT	Tên tổ chức đăng ký theo Thuyết minh	Tên tổ chức đã tham gia thực hiện	Nội dung tham gia chủ yếu	Sản phẩm chủ yếu đạt được	Ghi chú*
1	Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Nghiên cứu và phát triển chế phẩm vi sinh nội sinh kích thích sinh trưởng trên cây cà phê kiến thiết (HTD-CNSH-CF)	Nghiên cứu phân lập, tuyển chọn các chủng vi sinh vật nội từ rễ, đất và thân cây cà phê. Tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng diệt tuyến trùng và kích thích sinh trưởng cho cây cà phê. Phân loại và nghiên cứu đặc điểm sinh học và giải trình tự hệ gen và đánh giá độ an toàn sinh học của 3-5 chủng tuyển chọn. Nghiên cứu xây dựng quy trình tạo chế phẩm VSV nội sinh HTD-CNSH-CF và thử nghiệm chế phẩm ở qui mô phòng thí nghiệm và nhà lưới.	
2	Viện Nghiên cứu khoa học Miền Trung, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Viện Nghiên cứu khoa học Miền Trung, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Hoàn thiện công nghệ và sản xuất chế phẩm vi sinh cải tạo đất POLYFA-TN3 dùng cho cây cà phê và hồ tiêu. Tổ chức sản xuất 50 tấn sản phẩm POLYFA-TN3. Xây dựng quy trình sử dụng sản phẩm POLYFA-TN3 trên các đối tượng đất trồng	Đã hoàn thiện quy trình sản xuất sản phẩm POLYFA-TN3 quy mô công nghiệp với thể tích khối ủ từ 100m ³ . Sản xuất 50 tấn sản phẩm POLYFA-TN3 để thực hiện các thử nghiệm, khảo nghiệm và đưa vào sử dụng trong qui trình sử dụng các chế phẩm sinh học cho cây cà phê, hồ tiêu và các mô hình trình diễn. Xây dựng quy trình sử dụng sản phẩm POLYFA-TN3 trên các đối tượng đất trồng.	
3	Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tỉnh Đắk Lắk	Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tỉnh Đắk Lắk	Phối hợp thực hiện các thí nghiệm về khảo nghiệm các chế phẩm vi sinh chức năng, thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01.	Theo dõi và báo cáo các kết quả về sinh trưởng, tình hình sâu bệnh và năng suất chất lượng của các thí nghiệm về khảo nghiệm các chế phẩm vi sinh chức năng, thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01.	

4	Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tỉnh Lâm Đồng		Phối hợp thực hiện các thí nghiệm về khảo nghiệm các chế phẩm vi sinh chức năng, thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01.	Theo dõi và báo cáo các kết quả về sinh trưởng, tình hình sâu bệnh và năng suất chất lượng của các thí nghiệm về khảo nghiệm các chế phẩm vi sinh chức năng, thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01.	
5	Viện Nghiên cứu Đào tạo và Tư vấn Khoa học Công nghệ (ITC)	Viện Nghiên cứu Đào tạo và Tư vấn Khoa học Công nghệ (ITC)	Khảo nghiệm và xây dựng quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trên cây cà phê và cây hồ tiêu	Triển khai và thu các số liệu của các thí nghiệm nồng độ, lượng thuốc và thời điểm sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc Anisaf-SH 01 sử dụng cho cây cà phê và hồ tiêu. Đánh giá ảnh hưởng của thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 đến sinh trưởng, phát triển, năng suất, chất lượng sản phẩm của cây cà phê và hồ tiêu. Xây dựng quy trình sử dụng thuốc ANISAF SH01 cho cây cà phê và hồ tiêu	
6	Viện khoa học vật liệu ứng dụng, Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam	Viện khoa học vật liệu ứng dụng, Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam	Hoàn thiện công nghệ và sản xuất phân bón nhả chậm. Khảo nghiệm đánh giá phân bón nhả chậm	Đã hoàn thiện quy trình sản xuất sản phẩm phân bón NPK nhả chậm quy mô 500 – 1000 tấn/năm. Sản xuất 18 tấn phân bón nhả chậm NPK và 18 tấn phân NPK thông thường. Triển khai thực hiện các thí nghiệm khảo nghiệm phân bón NPK ở diện hẹp và diện rộng. Đăng ký hợp qui và các thủ tục pháp lý khác như bản quyền sản phẩm, nhãn hiệu sản phẩm.	
7		Viện Nghiên cứu ứng dụng công nghệ cao, Trường Đại học Đà Lạt		Phối hợp với cơ quan chủ trì đề tài thực hiện và theo dõi, đánh giá các kết quả về sinh trưởng, tình hình sâu bệnh và năng suất chất lượng của các thí nghiệm xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các sản phẩm sinh, hóa học và các mô hình trình diễn trên cây cà phê và hồ tiêu.	

5. Cá nhân chính tham gia thực hiện đề tài:

(Người tham gia thực hiện đề tài thuộc tổ chức chủ trì và cơ quan phối hợp, không quá 10 người kể cả chủ nhiệm)

STT	Cá nhân đăng ký theo Thuyết minh	Cá nhân đã tham gia thực hiện	Nội dung tham gia chính	Sản phẩm chủ yếu đạt được	Ghi chú*
1.	TS. Hà Việt Sơn	TS. Hà Việt Sơn và các thành viên khác	Nghiên cứu quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học cho cây cà phê và hồ tiêu.	Xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học (CAFE HTD-01, POLYFA TN3, Phân bón NPK nhả chậm, thuốc trừ sâu ANISAF SH01)	CNĐT

STT	Cá nhân đăng ký theo Thuyết minh	Cá nhân đã tham gia thực hiện	Nội dung tham gia chính	Sản phẩm chủ yếu đạt được	Ghi chú*
			Xây dựng mô hình trình diễn. Khảo nghiệm và xây dựng quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trên cây cà phê và cây hồ tiêu. Phụ trách các công việc chung khác của đề tài.	cho cây cà phê và các chế phẩm (HOTIEU HTD-03, POLYFA TN3, Phân bón NPK nhả chậm, thuốc trừ sâu ANISAF SH01) cho cây hồ tiêu. Xây dựng mô hình trình diễn. Xây dựng quy trình sử dụng ANISAF SH01 cho cây cà phê và hồ tiêu. Đăng ký hợp qui cho các chế phẩm CAFE HTD-01 và HOTIEU HTD-03	
2.	PGS.TS. Trần Đình Mẫn	PGS.TS. Trần Đình Mẫn và các thành viên khác	Hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh đa chức năng CAFE HTD-01 dùng cho cây cà phê và sản xuất chế phẩm vi sinh đa chức năng HOTIEU HTD-03 dùng cho cây hồ tiêu. Khảo nghiệm đánh giá chế phẩm CAFE HTD-01 trên cây cà phê. Khảo nghiệm đánh giá chế phẩm HOTIEU HTD-03 trên cây hồ tiêu kinh doanh	Hoàn thiện và xây dựng được quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh chức năng CAFE HTD-01 và HOTIEU HTD-03 quy mô 1000 tấn/năm và thử nghiệm, khảo nghiệm tác dụng của chế phẩm trên cây cà phê và hồ tiêu. Xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho cây cà phê và hồ tiêu. Xây dựng mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học, hóa học trên cây cà phê và hồ tiêu. Đăng ký giải pháp hữu ích cho các chế phẩm sinh học.	TKĐT
3.	ThS. Đỗ Thị Gấm	ThS. Đỗ Thị Gấm, TS. Chu Nhật Huy, ThS. Phan Thị Lan Anh và các thành viên khác	Khảo nghiệm và xây dựng quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trên cây cà phê và cây hồ tiêu. Nghiên cứu quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học cho cây cà phê và hồ tiêu. Xây dựng mô hình trình diễn	Triển khai và thu các số liệu về khảo nghiệm tác dụng phòng trừ của thuốc ANISAF SH01 trên các sâu bệnh gây hại chính ở cây cà phê và hồ tiêu. Xây dựng quy trình sử dụng thuốc ANISAF SH01 cho cây cà phê và hồ tiêu. Xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho cây cà phê và hồ tiêu. Xây dựng mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học, hóa học cho cây cà phê và hồ tiêu. Đăng ký giải pháp hữu ích cho các chế phẩm sinh học.	CQCT
4.	ThS. Nguyễn Thị Thu	ThS.	Hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh đa chức năng CAFE HTD-01 dùng cho cây cà phê và sản	Xây dựng được quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh chức năng CAFE - HTD 01 và	CQCT

STT	Cá nhân đăng ký theo Thuyết minh	Cá nhân đã tham gia thực hiện	Nội dung tham gia chính	Sản phẩm chủ yếu đạt được	Ghi chú*
		Nguyễn Thị Thu và các thành viên khác	xuất chế phẩm vi sinh đa chức năng HOTIEU HTD-03 dùng cho cây hồ tiêu. Khảo nghiệm đánh giá chế phẩm CAFE HTD-01 trên cây cà phê. Khảo nghiệm đánh giá chế phẩm HOTIEU HTD-03 trên cây hồ tiêu kinh doanh. Nghiên cứu Quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho cây cà phê và hồ tiêu. Xây dựng mô hình trình diễn.	HOTIEU - HTD 03 quy mô 1000 tấn/năm và ứng dụng trong canh tác chè, cà phê, hồ tiêu nhằm giảm sử dụng phân hóa học. Xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho cây cà phê và hồ tiêu. Xây dựng mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học, hóa học trên cây cà phê và hồ tiêu. Đăng ký giải pháp hữu ích cho các chế phẩm sinh học.	
5.	ThS. Phan Thị Lan Anh	ThS. Phan Thị Lan Anh, ThS. Nguyễn Thị Thu và các thành viên khác	Nghiên cứu Quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho cây cà phê và hồ tiêu. Xây dựng mô hình trình diễn	Xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho cây cà phê và hồ tiêu. Xây dựng mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học, hóa học trên cây cà phê và hồ tiêu.	CQCT
6.	ThS. Nguyễn Thị Hồng Hà	ThS. Nguyễn Thị Hồng Hà và các thành viên khác	Nghiên cứu và phát triển chế phẩm VSV nội sinh kích thích sinh trưởng trên cây cà phê kiến thiết (HTD-CNSH-CF)	Phân lập, tuyển chọn các chủng VSV nội sinh có khả năng diệt tuyến trùng và kích thích sinh trưởng cho cây cà phê từ đất, rễ, thân của cây cà phê. Phân loại và nghiên cứu đặc điểm sinh học và giải trình tự hệ gen và đánh giá độ an toàn sinh học của 3-5 chủng tuyển chọn. Nghiên cứu xây dựng quy trình tạo chế phẩm VSV nội sinh HTD-CNSH-CF và thử nghiệm chế phẩm ở qui mô phòng thí nghiệm và nhà lưới.	CQPH
7.	PGS.TS. Phạm Việt Cường	PGS.TS. Phạm Việt Cường và các thành viên khác	Hoàn thiện công nghệ và sản xuất chế phẩm vi sinh cải tạo đất POLYFA-TN3 dùng cho cây cà phê và hồ tiêu.	Đã hoàn thiện quy trình sản xuất sản phẩm POLYFA-TN3 quy mô công nghiệp với thể tích khối ủ từ 100m ³ . Sản xuất 50 tấn sản phẩm POLYFA-TN3 để thực hiện các thử nghiệm, khảo nghiệm và đưa vào sử dụng trong qui trình sử dụng các chế	CQPH

STT	Cá nhân đăng ký theo Thuyết minh	Cá nhân đã tham gia thực hiện	Nội dung tham gia chính	Sản phẩm chủ yếu đạt được	Ghi chú*
			Xây dựng quy trình sử dụng sản phẩm POLYFA-TN3 trên các đối tượng đất trồng	phẩm sinh học cho cây cà phê, hồ tiêu và các mô hình trình diễn. Xây dựng quy trình sử dụng sản phẩm POLYFA-TN3 trên các đối tượng đất trồng.	
8	GS.TS. Nguyễn Cửu Khoa	GS.TS. Nguyễn Cửu Khoa và các thành viên khác	Hoàn thiện công nghệ và sản xuất phân bón nhà chậm. Khảo nghiệm đánh giá phân bón nhà chậm	Đã hoàn thiện quy trình sản xuất sản phẩm phân bón NPK nhà chậm quy mô 500 -1000 tấn/năm. Sản xuất 18 tấn phân bón nhà chậm NPK và 18 tấn phân NOK. Thực hiện các thí nghiệm khảo nghiệm phân bón nhà chậm ở diện hẹp và diện rộng. Đăng ký hợp qui và các thủ tục pháp lý khác như bản quyền sản phẩm, nhãn hiệu sản phẩm.	CQPH
9	PGS. TS. Phạm Bích Ngọc	PGS. TS. Phạm Bích Ngọc và các thành viên khác	Nghiên cứu và phát triển chế phẩm VSV nội sinh kích thích sinh trưởng trên cây cà phê kiến thiết (HTD-CNSH-CF)	Phân lập, tuyển chọn các chủng vi sinh vật nội sinh từ đất, rễ và thân cây cà phê có khả năng diệt tuyến trùng và kích thích sinh trưởng cho cây cà phê. Phân loại và nghiên cứu đặc điểm sinh học và giải trình tự hệ gen và đánh giá độ an toàn sinh học của 3-5 chủng tuyển chọn. Nghiên cứu xây dựng quy trình tạo chế phẩm VSV nội sinh HTD-CNSH-CF và thử nghiệm chế phẩm ở qui mô phòng thí nghiệm và nhà lưới.	CQPH
10.	TS. Chu Nhật Huy	PGS.TS. Phí Quyết Tiến và các thành viên khác	Nghiên cứu và phát triển chế phẩm VSV nội sinh kích thích sinh trưởng trên cây cà phê kiến thiết (HTD-CNSH-CF)	Phân lập, tuyển chọn các chủng VSV nội sinh từ đất, rễ và thân cây cà phê có khả năng diệt tuyến trùng và kích thích sinh trưởng cho cây cà phê. Phân loại và nghiên cứu đặc điểm sinh học và giải trình tự hệ gen và đánh giá độ an toàn sinh học của 3-5 chủng tuyển chọn.	CQPH

6. Tình hình hợp tác quốc tế: Không có

7. Tình hình tổ chức hội thảo, hội nghị:

STT	Theo kế hoạch <i>(Nội dung, thời gian, kinh phí, địa điểm)</i>	Thực tế đạt được <i>(Nội dung, thời gian, kinh phí, địa điểm)</i>	Số người tham gia
1	Hội nghị nghiệm thu mô hình cây cà phê (03 mô hình cà phê gồm: cà phê giai đoạn kiến thiết, kinh doanh và giai đoạn sau kinh doanh): - Thời gian: 2019 - Kinh phí: 66,6 triệu - Địa điểm: tại Tây Nguyên	Hội nghị nghiệm thu mô hình cây cà phê (03 mô hình cà phê gồm: cà phê giai đoạn kiến thiết, kinh doanh và giai đoạn sau kinh doanh): - Thời gian: 21/10/2019 - Kinh phí: 66,6 triệu - Địa điểm: tại Lâm Đồng	> 100
2	Hội nghị nghiệm thu mô hình cây Hồ tiêu: - Thời gian: 2019 - Kinh phí: 16,8 triệu - Địa điểm: tại Tây Nguyên	Hội nghị đầu bờ nghiệm thu mô hình cây Hồ tiêu: - Thời gian: 11/01/2020 - Kinh phí: 16,8 triệu - Địa điểm: tại Lâm Đồng	> 100
3	Hội thảo khoa học: - Thời gian: năm 2019 - Kinh phí: 52.100.000 đ - Địa điểm: Chưa xác định	Hội thảo khoa học: Thời gian: 12/05/2020 - Kinh phí: 62.100.000 đồng - Địa điểm: Hội trường chi nhánh Công ty Cổ phần Đào tạo Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Thông tin CADASA, số 16 Trần Hưng Đạo, phường 10, thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng.	100

Lý do thay đổi thời gian:

Nghiệm thu mô hình được thực hiện vào cuối mùa vụ của cây trồng, cây hồ tiêu kết thúc mùa vụ vào tháng 3÷4 hàng năm, nhưng đề tài kết thúc vào tháng 12/2020, tại thời gian kết thúc đề tài thì mô hình hồ tiêu chưa đến mùa vụ thu hoạch, do đó đề tài phải xin gia hạn 6 tháng (lần 1) để nghiệm thu mô hình hồ tiêu đúng với mùa vụ cây trồng.

Kế hoạch tổ chức hội thảo khoa học của đề tài dự kiến sau khi nghiệm thu xong 4 mô hình cà phê và hồ tiêu, nhưng do ảnh hưởng của dịch Covid-19 kéo dài và thực hiện giãn cách xã hội nên đề tài đã không tổ chức Hội thảo theo kế hoạch đề ra. Ngoài ra một số thủ tục xin giấy phép họp quy bị chậm lại do ảnh hưởng của dịch Covid-19. Với những lý do trên đề tài đã phải xin gia hạn lần 2 thêm 5 tháng (kết thúc tháng 11/2020) để hoàn thành các công việc theo thuyết minh đã phê duyệt.

8. Tóm tắt các nội dung, công việc chủ yếu:

(Nêu tại mục 15 của thuyết minh, không bao gồm: Hội thảo khoa học, điều tra khảo sát trong nước và nước ngoài)

STT	Các nội dung, công việc chủ yếu (Các mốc đánh giá chủ yếu)	Thời gian (Bắt đầu, kết thúc - tháng ... năm)		Người, cơ quan thực hiện
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
1	Nội dung 1: Hoàn thiện quy trình sản xuất các chế phẩm sinh học dùng cho cây cà phê và hồ tiêu tại Tây Nguyên			
1.1	Công việc 1.1 Hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh đa chức năng CAFE HTD-01 dùng cho cây cà phê (Báo cáo khoa học 1-8 và sản xuất 10 tấn chế phẩm CAFE HTD-01)	12/2016 - 12/2017	12/2016 - 12/2019	Trung tâm Phát triển Công nghệ cao ThS. Nguyễn Thị Thu, CN. Hoàng Thị Thu Linh, ThS. Đỗ Thị Gấm và các thành viên khác Viện Công nghệ sinh học PGS.TS. Trần Đình Mẫn TS. Phạm Thanh Hà TS. Nguyễn Thế Trang ThS. Nguyễn Thị Thanh Xuân và các thành viên khác
1.2	Công việc 1.2 Hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh đa chức năng HOTIEU HTD-03 dùng cho cây hồ tiêu (Báo cáo khoa học 9 - 16 và sản xuất 7 tấn chế phẩm HOTIEU HTD-03)	12/2016 - 12/2017	12/2016 - 12/2019	Trung tâm Phát triển Công nghệ cao ThS. Nguyễn Thị Thu, CN. Hoàng Thị Thu Linh, ThS. Đỗ Thị Gấm và các thành viên khác Viện Công nghệ sinh học PGS.TS. Trần Đình Mẫn PGS.TS. Lê Gia Hy TS. Phạm Thanh Hà TS. Nguyễn Thế Trang ThS. Nguyễn Thị Thanh Xuân và các thành viên khác

STT	Các nội dung, công việc chủ yếu (Các mốc đánh giá chủ yếu)	Thời gian (Bắt đầu, kết thúc - tháng ... năm)		Người, cơ quan thực hiện
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
1.3	Công việc 1.3 Hoàn thiện công nghệ và sản xuất chế phẩm vi sinh cải tạo đất POLYFA-TN3 dùng cho cây cà phê và hồ tiêu (Báo cáo khoa học 17 - 19 và sản xuất 50 tấn chế phẩm POLYFA-TN3)	12/2016 - 12/2017	12/2016 - 12/2017	Viện Nghiên cứu Khoa học Miền Trung PGS.TS. Phạm Việt Cường ThS. Nguyễn Phương Hoa ThS. Trần Phương Hà, ThS. Lê Tuấn Anh ThS. Lê Phương Thảo ThS. Tôn Thất Hữu Đạt Và các thành viên khác
1.4	Công việc 1.4 Hoàn thiện công nghệ và sản xuất phân bón nhả chậm (Báo cáo khoa học 20 - 24 và sản xuất 18 tấn phân bón NPK nhả chậm và 18 tấn NPK thông thường)	12/2016 - 12/2017	12/2016 - 12/2018	Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng GS.TS. Nguyễn Cửu Khoa PGS.TS. Trần Ngọc Quyên ThS. Phạm Đông Yên KS. Nguyễn Công Trục TS. Võ Nguyên Đăng Khóa Và các thành viên khác
2	Nội dung 2: Xây dựng quy trình sử dụng và khảo nghiệm các chế phẩm sinh học dùng cho cây cà phê và hồ tiêu tại Tây Nguyên.			
2.1	Công việc 2.1 Khảo nghiệm đánh giá chế phẩm CAFE HTD-01 trên cây cà phê (Báo cáo khoa học 25 – 31 và giấy chứng nhận hợp qui sản phẩm CAFE HTD-01)	Năm 2017	1/2017 - 12/2019	Trung tâm Phát triển Công nghệ cao ThS. Nguyễn Thị Thu, CN. Nguyễn Thị Thu CN. Hoàng Thị Thu Linh, ThS. Đỗ Thị Gấm và các thành viên khác - Viện Công nghệ sinh học PGS.TS. Trần Đình Mẫn TS. Phạm Thanh Hà TS. Nguyễn Thế Trang

STT	Các nội dung, công việc chủ yếu (Các mốc đánh giá chủ yếu)	Thời gian (Bắt đầu, kết thúc - tháng ... năm)		Người, cơ quan thực hiện
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
				ThS. Nguyễn Thị Thanh Xuân và các thành viên khác
2.2	Công việc 2.2 Khảo nghiệm đánh giá chế phẩm HOTIEU HTD-03 trên cây hồ tiêu kinh doanh. (Báo cáo khoa học 32 – 35 và giấy chứng nhận hợp qui sản phẩm HOTIEU HTD-03)	Năm 2017	1/2017 - 12/2019	Trung tâm Phát triển Công nghệ cao ThS. Nguyễn Thị Thu, CN. Nguyễn Thị Thu CN. Hoàng Thị Thu Linh, và các thành viên khác Viện Công nghệ sinh học PGS.TS. Trần Đình Mẫn TS. Phạm Thanh Hà TS. Nguyễn Thế Trang ThS. Nguyễn Thị Thanh Xuân và các thành viên khác
2.3	Công việc 2.3 Xây dựng quy trình sử dụng sản phẩm POLYFA TN3 trên các đối tượng đất trồng (Báo cáo khoa học 36 – 37)	12/2016 - 12/2017	12/2017 - 12/2019	Viện Nghiên cứu Khoa học Miền Trung PGS.TS. Phạm Việt Cường ThS. Nguyễn Phương Hoa ThS. Trần Phương Hà, ThS. Lê Tuấn Anh ThS. Lê Phương Thảo ThS. Tôn Thất Hữu Đạt Và các thành viên khác
2.4	Công việc 2.4 Khảo nghiệm đánh giá phân bón nhả chậm (Báo cáo khoa học 38 – 39 và giấy chứng nhận hợp qui sản phẩm phân bón nhả chậm)	2018 - 2019	2018 - 2019	Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng GS.TS. Nguyễn Cứu Khoa PGS.TS. Trần Ngọc Quỳnh ThS. Phạm Đông Yên KS. Nguyễn Công Trục TS. Võ Nguyên Đăng Khóa

STT	Các nội dung, công việc chủ yếu (Các mốc đánh giá chủ yếu)	Thời gian (Bắt đầu, kết thúc - tháng ... năm)		Người, cơ quan thực hiện
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
				Và các thành viên khác
2.5	Công việc 2.5 Khảo nghiệm và xây dựng quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc Anisaf-SH01 trên cây cà phê và cây hồ tiêu (Báo cáo khoa học 40 – 53)	2017 – 2019	2017 – 2019	Trung tâm Phát triển Công nghệ cao TS. Hà Việt Sơn ThS. Đỗ Thị Gấm CN. Nguyễn Thị Thu, ThS. Đỗ Thị Gấm ThS. Phan Thị Lan Anh và các thành viên khác Viện nghiên cứu đào tạo và tư vấn khoa học công nghệ (ITC) TS. Hà Việt Hải TS. Hà Thị Thanh Bình ThS. Trần Quỳnh Hoa CN. Bùi Ngọc Ánh Và các thành viên khác
3	Nội dung 3: Nghiên cứu và phát triển chế phẩm VSV nội sinh kích thích sinh trưởng trên cây cà phê kiến thiết (HTD-CNSH-CF) (Báo cáo khoa học 54 – 61 và đăng ký GPPI)	12/2016 - 12/2018	12/2016 - 12/2019	Viện công nghệ Sinh học PGS. TS. Phạm Bích Ngọc PGS.TS. Phí Quyết Tiến ThS. Nguyễn Thị Hồng Hà, ThS. Nguyễn Thị Phương Thảo, ThS. Hoàng Hà, Và các thành viên khác
4	Nội dung 4. Nghiên cứu Quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho cây cà phê và hồ tiêu. (Báo cáo khoa học 54 – 77 và xây dựng các qui trình ứng dụng tích hợp các sản phẩm sinh học)	2017 - 2018	2017 - 2018	Trung tâm Phát triển Công nghệ cao TS. Hà Việt Sơn ThS. Nguyễn Thị Thu ThS. Đỗ Thị Gấm ThS. Phan Thị Lan Anh

STT	Các nội dung, công việc chủ yếu (Các mốc đánh giá chủ yếu)	Thời gian (Bắt đầu, kết thúc - tháng ... năm)		Người, cơ quan thực hiện
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
				CN. Nguyễn Thị Thu và các thành viên khác Viện Công nghệ sinh học PGS. Trần Đình Mẫn TS. Chu Nhật Huy và các thành viên khác - Và các đơn vị phối hợp
5	Nội dung 5: Xây dựng mô hình trình diễn			
5.1	Công việc 5.1 Xây dựng mô hình trình diễn sử dụng tích hợp chế phẩm sinh học cho cây cà phê giai đoạn kiến thiết (Báo cáo khoa học 78 - 82)	2018 - 2019	2018 - 2020	Trung tâm Phát triển Công nghệ cao TS. Hà Việt Sơn
5.2	Công việc 5.2 Xây dựng mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho cây cà phê giai đoạn kinh doanh (Báo cáo khoa học 83 - 87)	2018 - 2019	2018 - 2020	ThS. Nguyễn Thị Thu, ThS. Đỗ Thị Gấm ThS. Phan Thị Lan Anh CN. Nguyễn Thị Thu và các thành viên khác
5.3	Công việc 5.3 Xây dựng mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho cây cà phê cuối giai đoạn kinh doanh (Báo cáo khoa học 88 - 92)	2018 - 2019	2018 - 2020	Viện Công nghệ sinh học PGS. Trần Đình Mẫn TS. Chu Nhật Huy và các thành viên khác
5.4	Công việc 5.4 Xây dựng mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho cây hồ tiêu kinh doanh (Báo cáo khoa học 88 - 92)	2018 - 2019	2018 - 2020	Và các đơn vị phối hợp

Lý do thay đổi: Thời gian thực hiện tiến độ các công việc của đề tài có một số nội dung chậm hơn so với tiến độ ban đầu. Đây là một đề tài thực hiện ngoài đồng ruộng nên phụ thuộc vào mùa vụ cây trồng, tình hình diễn biến sâu bệnh theo mùa, vì vậy mà một số thí nghiệm phải lùi lại, quá trình triển khai mô hình cũng phải kéo dài theo mùa vụ.

III. SẢN PHẨM KH&CN CỦA ĐỀ TÀI, DỰ ÁN

1. Sản phẩm KH&CN đã tạo ra:

a) Sản phẩm Dạng I:

STT	Tên sản phẩm	Đơn vị tính	Số lượng		Ghi chú
			Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
I.1	Chế phẩm CAFE HTD-01	Tấn	10	10	Toàn bộ sản phẩm đã được bàn giao cho các đơn vị tại địa phương và đã sử dụng hết trong quá trình triển khai thực hiện nhiệm vụ.
I.2	Chế phẩm HOTIEU-HTD03	Tấn	7	7	Toàn bộ sản phẩm đã được bàn giao cho các đơn vị tại địa phương và đã sử dụng hết trong quá trình triển khai thực hiện nhiệm vụ.
I.3	Bộ chủng vi sinh vật nội sinh phù hợp kích thích sinh trưởng trên cây cà phê tái canh	Chủng	3-5 chủng (vi khuẩn, xạ khuẩn và nấm)	5 chủng (2 chủng vi khuẩn và 3 chủng xạ khuẩn)	Các chủng vi sinh vật được lưu trữ tại Trung tâm Giống vi sinh vật – Viện Công nghệ sinh học- Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
I.4	Chế phẩm vi sinh vật nội sinh HTD-CNSH-CF	kg	50	50	Toàn bộ sản phẩm đã được bàn giao cho các đơn vị tại địa phương và đã sử dụng hết trong quá trình triển khai thực hiện nhiệm vụ.

b) Sản phẩm Dạng II:

STT	Tên sản phẩm	Đơn vị tính	Số lượng		Ghi chú
			Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
II.1	04 Quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm các chế phẩm sinh hóa học nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên	Quy trình	04	04	Quy trình đã nghiệm thu ngày 03/11/2020
II.2	04 mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm các chế phẩm sinh, hóa học nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên	Quy trình	04	04	03 Mô hình sử dụng tích hợp cho cây cà phê đã nghiệm thu ngày 21/10/2019. 01 Mô hình sử dụng tích hợp cho cây hồ tiêu đã được nghiệm thu ngày 11/1/2020
II.3	02 quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh CAFE HTD-01; HOTIEU HTD-03	Quy trình	02	02	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 30/10/2020
II.4	01 quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh cải tạo đất POLYFA TN3 dùng cho cây cà phê và hồ tiêu	Quy trình	01	01	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 30/10/2020
II.5	01 quy trình sản xuất phân bón nhà chặm cho cây cà phê	Quy trình	01	01	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 30/10/2020
II.6	01 quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh nội sinh HTD-CNSH-CF	Quy trình	01	01	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 30/10/2020
II.7	01 quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 cho cây cà phê	Quy trình	01	01	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 2/11/2020
II.8	01 quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 cho cây hồ tiêu	Quy trình	01	01	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 2/11/2020

c, Sản phẩm Dạng III:

STT	Tên sản phẩm	Đơn vị tính	Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	Ghi chú
III.1	Bài báo quốc tế	Bài	01	01	Occurrence of endophytic acteria in Vietnamese Robusta coffee roots and their effects on plant parasitic nematodes, <i>Đăng trên tạp chí Symbiosis Published online: 16 December 2019; https://doi.org/10.1007/s13199-019-00649-9</i>
III.2	Bài báo trong nước trên Tạp chí chuyên ngành	Bài	03	03	1. Đánh giá hiệu lực của thuốc bảo vệ thực vật sinh học ANISAF SH01 trong diệt trừ rệp sáp, tuyến trùng trên cây cà phê và hồ tiêu tại Tây Nguyên. <i>Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển nông thôn, số 22/2018.</i> 2. Đánh giá tác dụng của chế phẩm sinh học HOTIEU HTD-03 trên cây hồ tiêu tại Tây Nguyên. <i>Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam, số 2 (111) 2020.</i> 3. Đánh giá tác dụng của chế phẩm sinh học CAFE HTD-01 trên cây cà phê ghép tại Tây Nguyên. <i>Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam, số 3 (112) 2020</i>
III.3	Bài báo trong nước trên kỷ yếu Hội nghị, hội thảo	Bài	0	01	1. Phân loại một số chủng vi sinh vật phân lập từ đất trồng cà phê Tây Nguyên để sản xuất chế phẩm vi sinh đa chủng. <i>Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 7: 1748 - 1755</i>
III.4	Hội thảo	Hội thảo	01	01	Hội thảo: “Mô hình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh, hóa học nhằm phát triển bền vững và hiệu quả cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên”. Tổ chức tháng 5/2020 tại TP. Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng

d) Kết quả đào tạo:

Số TT	Cấp đào tạo, Chuyên ngành đào tạo	Số lượng		Ghi chú (Thời gian kết thúc)
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
1	Thạc sỹ, Công nghệ sinh học	01	02	1. Thạc sỹ Đào Thùy Dương. Chuyên ngành: Công nghệ sinh học, đã bảo vệ năm 2020 tại Học Viện Khoa học Công nghệ. 2. Thạc sỹ Bùi Văn Khánh. Chuyên ngành: Khoa học cây trồng, đã bảo vệ năm 2019 tại Trường Đại học Tây Nguyên
2	Tiến sỹ, chuyên ngành Vi sinh học	0	01	NCS. Nguyễn Thị Thu, Quyết định số 557/QĐ – HVKHCN ngày 22/7/20217 về việc công nhận tên đề tài, người hướng dẫn nghiên cứu sinh đợt I năm 2017.

Lý do thay đổi (nếu có):

đ) Tình hình đăng ký bảo hộ quyền sở hữu công nghiệp, quyền đối với giống cây trồng:

STT	Tên sản phẩm	Đơn vị tính	Theo kế hoạch	Thực tế đạt được
1	Đăng ký bảo hộ quyền sở hữu công nghiệp	Giấy chấp nhận đơn	05	05
1.1	Giải pháp hữu ích về quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh vật nội sinh HTD-CNSH-CF	Giấy chấp nhận đơn	01	01
1.2	Giải pháp hữu ích: sản xuất và sử dụng chế phẩm vi sinh vật đa chủng, đa chức năng HOTIEU HTD-03 cho cây hồ tiêu	Giấy chấp nhận đơn	01	01
1.3	Sở hữu nhãn mác hàng hóa: Chế phẩm CAFE- HTD01; HOTEU-HTD03; Phân bón nhả chậm cho cây cà phê	Giấy chấp nhận đơn	03	03
1.4	Giải pháp hữu ích: sản xuất và sử dụng chế phẩm vi sinh vật đa chủng, đa chức năng CAFE- HTD01 cho cây cà phê	Bảng độc quyền	0	01
2	Giấy chứng nhận hợp quy	Giấy chứng nhận	03	03

2.1	Giấy chứng nhận hợp quy cho chế phẩm CAFE- HTD01 cho cây cà phê	Giấy chứng nhận	01	01
2.2	Giấy chứng nhận hợp quy cho chế phẩm CAFE- HTD03 cho cây hồ tiêu	Giấy chứng nhận	01	01
2.3	Giấy chứng nhận hợp quy cho chế phẩm phân bón nhả chậm cho cây cà phê	Giấy chứng nhận	01	01

e) Thống kê danh mục sản phẩm KHCN đã được ứng dụng vào thực tế

STT	Tên kết quả đã được ứng dụng	Thời gian	Địa điểm (Ghi rõ tên, địa chỉ nơi ứng dụng)	Kết quả
1	Chế phẩm vi sinh chức năng CAFE – HTD 01 cho cây cà phê	2018-2020	Mô hình canh tác cà phê tại Lâm Đồng	Giảm 35 % phân hóa học bón cho cà phê
2	Chế phẩm vi sinh chức năng HOTIEU HTD-03 cho cây hồ tiêu	2018-2020	Mô hình canh tác hồ tiêu tại Lâm Đồng	Giảm 35 % phân hóa học bón cho hồ tiêu
3	Mô hình trình diễn sử dụng tích các chế phẩm sinh, hóa học cho cây cà phê giai đoạn kiến thiết nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê ở Lâm Đồng	2018-2020	Mô hình canh tác cà phê tại Lâm Đồng	- Tăng năng suất cây trồng; - Giảm sâu bệnh gây hại trên cây trồng - Cà phê đạt tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm - Thay thế 35% phân bón hoá học, 50% thuốc BCTV hoá học
4	Mô hình trình diễn sử dụng tích các chế phẩm sinh, hóa học cho cây cà phê giai đoạn kinh doanh nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê ở Lâm Đồng	2018-2020	Mô hình canh tác cà phê tại Lâm Đồng	- Tăng năng suất cây trồng; - Giảm sâu bệnh gây hại trên cây trồng - Cà phê đạt tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm - Thay thế 35% phân bón hoá học, 50% thuốc BCTV hoá học
5	Mô hình trình diễn sử dụng tích các chế phẩm sinh, hóa học cho cây cà phê giai đoạn sau kinh doanh nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê ở Lâm	2018-2020	Mô hình canh tác cà phê tại Lâm Đồng	- Tăng năng suất cây trồng; - Giảm sâu bệnh gây hại trên cây trồng - Cà phê đạt tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm - Thay thế 35% phân bón hoá học, 50% thuốc BCTV

	Đồng			hoá học
6	Mô hình trình diễn sử dụng tích các chế phẩm sinh, hóa học cho cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê ở Lâm Đồng	2018-2020	Mô hình canh tác hồ tiêu tại Lâm Đồng	<ul style="list-style-type: none"> - Tăng năng suất cây trồng; - Giảm sâu bệnh hại cho cây Hồ tiêu - Hồ tiêu đạt tiêu chuẩn về vệ sinh an toàn thực phẩm - Thay thế 35% phân bón hoá học, 50% thuốc BCTV hoá học

2. Đánh giá về hiệu quả do đề tài, dự án mang lại:

a) Hiệu quả về khoa học và công nghệ:

- Đề tài đưa ra các công nghệ sản xuất các vật tư nông nghiệp phục vụ phát triển nông nghiệp bền vững, bao gồm các chế phẩm vi sinh vật bản địa đa chức năng góp phần thay thế phân bón hóa học, phân bón nhả chậm giúp giảm lượng phân bón hoá học và giảm thoái hoá đất, thuốc bảo vệ thực vật sinh học thay thế một phần thuốc hóa học bảo vệ cây trồng góp phần phát triển bền vững cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên.

- Nâng cao năng lực nghiên cứu khoa học và công nghệ của Trung tâm Phát triển công nghệ cao.

- Kết quả nghiên cứu của đề tài góp phần nâng cao dân trí về ứng dụng các chế phẩm sinh hoá học trong canh tác cà phê và hồ tiêu theo hướng bền vững cho người dân tại địa bàn triển khai mô hình.

b) Hiệu quả về kinh tế xã hội:

- Kết quả nghiên cứu các mô hình của Đề tài góp phần gia tăng giá trị cho cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên, giảm được mức độ sử dụng phân bón và thuốc trừ sâu hóa học, góp phần giảm thiểu ô nhiễm nguồn nước không khí, đồng thời cũng giảm mức độ độc hại cho người nông dân. Giảm chi phí sản xuất, tăng năng suất và chất lượng hàng hóa đóng vai trò quan trọng trong tiêu chí phát triển bền vững.

- Trong quá trình thực hiện mô hình, người dân đã được tập huấn và hiểu được tầm quan trọng của phát triển bền vững đối với cây chè, cà phê và hồ tiêu. Đề tài đã góp phần nâng cao dân trí cho người dân về tầm quan trọng trong sản xuất bền vững.

3. Tình hình thực hiện chế độ báo cáo, kiểm tra của đề tài, dự án:

STT	Nội dung	Thời gian thực hiện	Ghi chú (Tóm tắt kết quả, kết luận chính, người chủ trì...)
I	Báo cáo định kỳ		
	Lần 1	15/08/2017	Đề tài triển khai theo đúng tiến độ
	Lần 2	19/04/2018	Đề tài triển khai theo đúng tiến độ
	Lần 3	22/04/2019	Đề tài triển khai theo đúng tiến độ
	Lần 4	24/04/2020	Đề tài triển khai theo đúng tiến độ
	Lần 5	09/11/2020	Kiểm tra lần cuối kết thúc đề tài
II	Kiểm tra định kỳ		
	Lần 1	15/08/2017	Đề tài triển khai theo đúng tiến độ
	Lần 2	19/04/2018	Đề tài triển khai theo đúng tiến độ
	Lần 3	22/04/2019	Đề tài triển khai theo đúng tiến độ
	Lần 4	24/04/2020	Đề tài triển khai theo đúng tiến độ
	Lần 5	09/11/2020	Kiểm tra lần cuối kết thúc đề tài
III	Nghiệm thu cơ sở	30/11/2020	Tại Trung tâm Phát triển công nghệ cao

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI

TS. Hà Việt Sơn

THỦ TRƯỞNG TỔ CHỨC CHỦ TRÌ
(Họ tên, chữ ký và đóng dấu)



TỔNG GIÁM ĐỐC

Nguyễn Văn Chao

MỤC LỤC

Trang

	Danh mục các ký hiệu, các chữ viết tắt	
	Danh mục các bảng	
	Danh mục các hình vẽ, đồ thị	
	MỞ ĐẦU	1
	Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1.	Ứng dụng chế phẩm sinh hoá học trong phát triển nông nghiệp bền vững	4
1.1.1.	Chế phẩm nguồn gốc VSV	4
1.1.2.	Chế phẩm nguồn gốc thảo mộc	14
1.1.3.	Phân bón nhả chậm	15
1.2.	Ứng dụng các chế phẩm sinh hoá học trong phát triển nông nghiệp bền vững tại Việt Nam	17
1.2.1	Phân bón sinh học	17
1.2.2.	Chế phẩm sinh học phòng trừ sinh vật hại	21
1.2.3.	Phân bón nhả chậm	23
1.3.	Tình hình ứng dụng các chế phẩm sinh hoá học trong phát triển cây cà phê và hồ tiêu tại Tây Nguyên	25
1.3.1.	Ứng dụng chế phẩm phân bón sinh học cho cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên	25
1.3.2.	Ứng dụng chế phẩm sinh học phòng trừ sinh vật hại cho cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên	27
1.4.	Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất các chế phẩm sinh hoá học trong phát triển nông nghiệp bền vững	30
1.4.1.	Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm CAFE HTD-01	30
1.4.2.	Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm HOTIEU HTD-03	32
1.4.3	Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm POLYFA TN3	33
1.4.4.	Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất phân bón nhả chậm	33
	Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	35
2.1.	Vật liệu nghiên cứu	35

2.2.	Phương pháp nghiên cứu	38
2.3.	Địa điểm thí nghiệm	41
	Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	42
3.1.	Nghiên cứu công nghệ sản xuất chế phẩm HTD-CNSH-CF	42
3.1.1.	Kết quả nghiên cứu tạo giống và bảo quản chủng giống VSV	42
3.1.1.1.	Phân lập và tuyển chọn các chủng VSV nội sinh chức năng từ cây cà phê	42
3.1.1.2.	Nghiên cứu phân loại các chủng VSV nội sinh chức năng	47
3.1.1.3.	Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng của VSV	52
3.1.2.	Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống, thu hồi và tạo chế phẩm	55
3.1.2.1	Nghiên cứu quy trình nhân giống, nhân sinh khối tạo chế phẩm HTD-CNSH-CF quy mô phòng thí nghiệm	55
3.1.2.2.	Sản xuất 50 lít chế phẩm HTD-CNSH-CF	58
3.1.3.	Đánh giá tác dụng chế phẩm HTD-CNSH-CF trên cây cà phê	58
3.2.	Hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm CAFE HTD-01	60
3.2.1.	Tình trạng kỹ thuật của chế phẩm trước hoàn thiện	60
3.2.2.	Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất, nâng cấp từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô pilot.	61
3.2.2.1.	Nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân giống, nhân sinh khối tạo chế phẩm CAFE HTD-01 quy mô pilot.	61
3.2.2.2.	Nghiên cứu hoàn thiện quy trình thu hồi và tạo chế phẩm	67
3.2.2.3.	Quy trình sản xuất chế phẩm quy mô 1000 kg/mẻ	72
3.2.2.4.	Nghiên cứu xây dựng chỉ tiêu chất lượng chế phẩm	75
3.2.2.5.	Kết quả đánh giá chất lượng chế phẩm	75
3.2.2.6.	Đề xuất giá thành sản phẩm	77
3.2.2.7.	Sản xuất 10 tấn chế phẩm	78
3.2.2.8.	Đăng ký chứng nhận hợp quy chuẩn kỹ thuật cho chế phẩm CAFE HTD-01	78
3.2.3.	Nghiên cứu khảo nghiệm đánh giá tác dụng đối với cây cà phê	78
3.2.3.1.	Kết quả khảo nghiệm diện hẹp	78
3.2.3.2.	Kết quả khảo nghiệm diện rộng	81
3.2.3.3.	Quy trình và hướng dẫn sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 cho cây cà phê	85
3.3.	Hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm HOTIEU HTD-03	87

3.3.1.	Tình trạng kỹ thuật của chế phẩm trước hoàn thiện	87
3.3.2.	Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất, nâng cấp từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô pilot.	87
3.3.2.1.	Nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân giống, nhân sinh khối tạo chế phẩm HOTIEU HTD-03 quy mô pilot.	87
3.3.2.2.	Nghiên cứu hoàn thiện quy trình thu hồi và tạo sản phẩm	93
3.3.2.3.	Quy trình sản xuất chế phẩm quy mô 1000 kg/mẻ	98
3.3.2.4.	Nghiên cứu xây dựng chỉ tiêu chất lượng chế phẩm	101
3.3.2.5.	Kết quả đánh giá chất lượng chế phẩm	101
3.3.2.6.	Đề xuất giá thành sản phẩm	103
3.3.2.7.	Sản xuất 7 tấn chế phẩm	104
3.3.2.8.	Đăng ký chứng nhận hợp quy chuẩn kỹ thuật cho chế phẩm HOTIEU HTD-03	104
3.3.3.	Nghiên cứu khảo nghiệm đánh giá tác dụng đối với cây hồ tiêu	104
3.3.3.1.	Kết quả khảo nghiệm diện hẹp	104
3.3.3.2.	Kết quả khảo nghiệm diện rộng	109
3.3.3.3.	Quy trình và hướng dẫn sử dụng chế phẩm HOTIEU HTD-03 cho cây hồ tiêu	113
3.4.	Hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm POLYFA TN3	115
3.4.1.	Tình trạng kỹ thuật của chế phẩm trước hoàn thiện	115
3.4.2.	Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất chế phẩm, nâng cấp từ quy mô pilot lên quy mô công nghiệp.	115
3.4.2.1.	Nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân giống, nhân sinh khối tạo chế phẩm POLYFA TN3 quy mô công nghiệp.	115
3.4.2.2.	Nghiên cứu hoàn thiện quy trình thu hồi và tạo sản phẩm	138
3.4.2.3.	Quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh cải tạo đất POLYFA TN3 quy mô công nghiệp	145
3.4.2.4.	Sản xuất 50 tấn chế phẩm POLYFA TN3	147
3.4.3.	Nghiên cứu khảo nghiệm đánh giá tác dụng đối với cây cà phê và hồ tiêu của chế phẩm POLYFA TN3	147
3.4.3.1.	Kết quả khảo nghiệm diện rộng trên cây cà phê	147
3.4.3.2.	Kết quả khảo nghiệm diện rộng trên cây hồ tiêu	154

3.4.3.3.	Quy trình và hướng dẫn sử dụng	157
3.5.	Hoàn thiện công nghệ sản xuất phân bón nhả chậm cho cây cà phê	160
3.5.1.	Tình trạng kỹ thuật của chế phẩm trước hoàn thiện	160
3.5.2.	Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất chế phẩm, nâng cấp từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô pilot.	160
3.5.2.1.	Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất phân bón NPK 15.15.18 nhả chậm quy mô pilot (200 kg/m ²)	161
3.5.2.2.	Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất phân bón NPK 20.0.18 nhả chậm quy mô pilot (200 kg/m ²)	164
3.5.2.3.	Nghiên cứu xây dựng chỉ tiêu đánh giá chất lượng chế phẩm	166
3.5.2.4.	Nghiên cứu thiết lập điều kiện bảo quản sản phẩm	169
3.5.2.5.	Chuẩn hoá chất lượng cho chế phẩm phân nhả chậm	170
3.5.3.	Nghiên cứu khảo nghiệm đánh giá tác dụng đối với cây cà phê	170
3.5.3.1.	Kết quả khảo nghiệm diện hẹp	170
3.5.3.2.	Kết quả khảo nghiệm diện rộng	173
3.5.3.3.	Quy trình và hướng dẫn sử dụng	177
3.6.	Hoàn thiện quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 cho cây cà phê và cây hồ tiêu	178
3.6.1.	Nghiên cứu khảo nghiệm đánh giá tác dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trên cây cà phê và hồ tiêu	178
3.6.1.1.	Thông tin chung	178
3.6.1.2.	Kết quả khảo nghiệm trên cây cà phê giai đoạn kiến thiết	179
3.6.1.2.1.	Kết quả đánh giá hiệu lực của thuốc trên một số sâu bệnh gây hại chính	179
3.6.1.2.2.	Kết quả đánh giá tác dụng của thuốc đến một số chỉ tiêu sinh trưởng, năng suất, chất lượng và đất trồng	181
3.6.1.3.	Kết quả khảo nghiệm trên cây cà phê giai đoạn kinh doanh	185
3.6.1.3.1.	Kết quả đánh giá hiệu lực của thuốc trên một số sâu bệnh gây hại chính	185
3.6.1.3.2.	Kết quả đánh giá tác dụng của thuốc đến một số chỉ tiêu sinh trưởng, năng suất, chất lượng và đất trồng	186
3.6.1.4.	Kết quả khảo nghiệm trên cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh	192

3.6.1.4.1.	Kết quả đánh giá hiệu lực của thuốc trên một số sâu bệnh gây hại chính	193
3.6.1.4.2.	Kết quả đánh giá tác dụng của thuốc đến một số chỉ tiêu sinh trưởng, năng suất, chất lượng và đất trồng	193
3.6.1.5.	Nhận xét tình hình phát sinh, phát triển, sâu bệnh, khả năng chống chịu của cây trồng trong thời gian khảo nghiệm	198
3.6.2.	Đề xuất quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trên cây cà phê và hồ tiêu.	200
3.6.2.1.	Quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trong trừ dịch hại cho cây cà phê	200
3.6.2.2.	Quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trong trừ dịch hại cho cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh	202
3.7.	Nghiên cứu quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học cho cây cà phê và hồ tiêu	204
3.7.1.	Các chế phẩm sinh hoá học tham gia công thức tích hợp	204
3.7.2.	Cơ sở khoa học xây dựng quy trình tích hợp các chế phẩm sinh, hóa học cho cây cà phê và hồ tiêu	206
3.7.3.	Nghiên cứu xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học trên cây cà phê giai đoạn kiến thiết	211
3.7.3.1.	Đặc điểm vườn trước khi thực hiện thí nghiệm	211
3.7.3.2.	Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các công thức lên các chỉ số của vườn cà phê giai đoạn kiến thiết	212
3.7.3.3.	Đề xuất quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học trên cây cà phê giai đoạn kiến thiết	227
3.7.4.	Nghiên cứu xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học trên cây cà phê giai đoạn kinh doanh	233
3.7.4.1.	Đặc điểm vườn trước khi thực hiện thí nghiệm	233
3.7.4.2.	Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các công thức lên các chỉ số của vườn cà phê giai đoạn kinh doanh	233
3.7.4.3.	Đề xuất quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học trên cây cà phê giai đoạn kinh doanh.	247

3.7.5.	Nghiên cứu xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học trên cây cà phê giai đoạn cuối kinh doanh	252
3.7.5.1.	Đặc điểm vườn trước khi thực hiện thí nghiệm	252
3.7.5.2.	Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các công thức lên các chỉ số của vườn cà phê giai đoạn cuối kinh doanh	253
3.7.5.3.	Đề xuất quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học trên cây cà phê giai đoạn cuối kinh doanh	267
3.7.6	Nghiên cứu xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học trên cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh	273
3.7.6.1.	Đặc điểm vườn trước khi thực hiện thí nghiệm	273
3.7.6.2.	Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các công thức lên các chỉ số của vườn hồ tiêu giai đoạn kinh doanh	273
3.7.6.3.	Đề xuất quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học trên cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh.	288
3.8.	Xây dựng mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên	293
3.8.1.	Xây dựng mô hình trình diễn cho cây cà phê giai đoạn kiến thiết	294
3.8.2.	Xây dựng mô hình trình diễn cho cây cà phê giai đoạn kinh doanh	296
3.8.3.	Xây dựng mô hình trình diễn cho cây cà phê giai đoạn cuối kinh doanh	297
3.8.4.	Xây dựng mô hình trình diễn cho cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh	299
3.8.5.	Đánh giá hiệu quả mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên	300
3.8.5.1.	Hiệu quả cải thiện chất lượng đất trồng cà phê và hồ tiêu	300
3.8.5.2.	Hiệu quả nâng cao số lượng các VSV có ích trong đất trồng cà phê và hồ tiêu	301
3.8.5.3.	Hiệu quả giúp cây cà phê và hồ tiêu sinh trưởng phát triển tốt	303
3.8.5.4.	Hiệu quả đảm bảo các yếu tố cấu thành năng suất cà phê và hồ tiêu	303
3.8.5.5.	Hiệu quả trong trừ dịch hại cà phê và hồ tiêu theo hướng bền vững	305
3.8.5.6.	Hạt cà phê và hồ tiêu canh tác theo hướng bền vững đạt chất lượng tốt, đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm.	310

3.8.5.7	Hiệu quả góp phần tăng tính bền vững môi trường	310
3.8.5.8.	Hiệu quả kinh tế vẫn được đảm bảo khi canh tác theo hướng bền vững	310
	Chương 4. TÓM TẮT VÀ ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	313
4.1	Kết quả khoa học	313
4.2	Đánh giá hiệu quả của đề tài	317
	KẾT LUẬN	318
	KIẾN NGHỊ	319
	TÀI LIỆU THAM KHẢO	320
	PHỤ LỤC	326

DANH MỤC CÁC BẢNG

<i>Bảng</i>	<i>Tiêu đề</i>	<i>Trang</i>
1.1.	Quy mô và tình trạng công nghệ của các chế phẩm trước hoàn thiện	32
2.1.	Nội dung và phương pháp nghiên cứu	38
3.0.1.	Đặc điểm hình thái của một số chủng VSV nghiên cứu	43
3.0.2.	Hoạt tính enzyme chitinase và cellulase của 5 chủng vi khuẩn	45
3.0.3.	Hoạt tính enzyme chitinase và cellulase của 15 chủng xạ khuẩn	46
3.0.4.	Khả năng sử dụng cơ chất theo kit API 50 CHB của chủng 11R01 và 18R01 so sánh với loài trong bảng Index của kit	47
3.0.5.	Ảnh hưởng nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng vi khuẩn	52
3.0.6.	Ảnh hưởng nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng xạ khuẩn	52
3.0.7.	Ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến khả năng sinh trưởng VSV	53
3.0.8.	Kết quả tuyển chọn chủng VSV nội sinh chức năng	54
3.0.9.	Môi trường và thời gian lên men cấp 1 và cấp 2 các chủng VSV	56
3.0.10.	Thông số kỹ thuật thích hợp cho quá trình nhân sinh khối cấp 2	56
3.0.11.	Kết quả kiểm tra chất lượng	57
3.0.12.	Chiều cao và số cặp lá của cây cà phê sau 1 tháng lây nhiễm chế phẩm HTD-CNSH-CF	58
3.0.13.	Sinh trưởng của cây cà phê tại vườn ươm sau 3, 6, 9 tháng theo dõi	59
3.0.14.	Theo dõi sinh trưởng về chiều dài rễ chính và số rễ nhánh của cây cà phê 20 ngày tuổi sau lây nhiễm chế phẩm HTD-CNSH-CF	60
3.1.1.	Tình trạng kỹ thuật trước hoàn thiện của chế phẩm CAFE HTD-01	61
3.1.2.	Kết quả đánh giá sinh trưởng và sự thay đổi hoạt tính của các chủng VSV khi được nuôi trên các môi trường khác nhau	61
3.1.3.	Ảnh hưởng của tỉ lệ giống cấy lên mật độ VSV trong các nôi lên men xộp (CFU/g trọng lượng khô)	63
3.1.4.	Ảnh hưởng của thời gian lên men lên mật độ VSV trong các nôi lên men xộp (CFU/g trọng lượng khô)	63
3.1.5.	Ảnh hưởng của độ ẩm môi trường giá thể lên mật độ VSV trong các nôi lên men xộp (CFU/g trọng lượng khô)	64

3.1.6.	Ảnh hưởng của độ thông khí lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp (CFU/g trọng lượng khô)	64
3.1.7.	Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp (CFU/g trọng lượng khô)	65
3.1.8.	Ảnh hưởng của pH môi trường lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp (CFU/g trọng lượng khô)	65
3.1.9.	Ảnh hưởng của các thành phần chất mang đến mật độ tế bào các chủng VSV	68
3.1.10.	Mã hóa các biến số	69
3.1.11.	Sự biến động mật độ các nhóm VSV trong các nghiệm thức	69
3.1.12.	Một số đặc tính của bao bì sử dụng trong bảo quản chế phẩm CAFE-HTD01	70
3.1.13.	Ảnh hưởng của các loại bao bì đến số lượng VSV có trong chế phẩm	71
3.1.14.	Ảnh hưởng của độ ẩm chế phẩm đến số lượng VSV có trong chế phẩm	71
3.1.15.	Ảnh hưởng của khối lượng sản phẩm đến số lượng VSV có trong chế phẩm	71
3.1.16.	Ảnh hưởng của thời gian đóng gói đến số lượng VSV có trong chế phẩm	72
3.1.17.	Thành phần hỗn hợp chất mang trong 1000 kg môi trường nuôi cấy xốp	74
3.1.18.	Mật độ VSV trong chế phẩm theo thời gian (CFU/g trọng lượng khô)	75
3.1.19.	Mật độ VSV trong chế phẩm theo thời gian (CFU/g trọng lượng khô)	75
3.1.20.	Hoạt tính của VSV trong chế phẩm theo thời gian	76
3.1.21.	Số lượng VSV cố định đạm, phân giải lân trong các mẫu thí nghiệm sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 tại đất trồng cà phê tại Tây Nguyên	76
3.1.22.	Tổng hợp chi phí cho sản xuất 1 tấn chế phẩm	77
3.2.1.	Kết quả đánh giá sinh trưởng và sự thay đổi hoạt tính của các chủng VSV khi được nuôi trên các môi trường khác nhau	87
3.2.2.	Ảnh hưởng của tỉ lệ giống cấy lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp (CFU/g trọng lượng khô)	88
3.2.3.	Ảnh hưởng của thời gian lên men lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp (CFU/g trọng lượng khô)	89
3.2.4.	Ảnh hưởng của độ ẩm môi trường giá thể lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp (CFU/g trọng lượng khô)	89

3.2.5.	Ảnh hưởng của độ thông khí lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp (CFU/g trọng lượng khô)	90
3.2.6.	Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp (CFU/g trọng lượng khô)	90
3.2.7.	Ảnh hưởng của pH môi trường lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp (CFU/g trọng lượng khô)	91
3.2.8.	Ảnh hưởng của các thành phần chất mang đến mật độ tế bào các chủng VSV	94
3.2.9.	Mã hóa các biến số	95
3.2.10.	Sự biến động mật độ các nhóm VSV trong các nghiệm thức	95
3.2.11.	Một số đặc tính của bao bì sử dụng trong bảo quản chế phẩm	96
3.2.12.	Ảnh hưởng của các loại bao bì đến số lượng VSV có trong chế phẩm	97
3.2.13.	Ảnh hưởng của độ ẩm chế phẩm đến số lượng VSV có trong chế phẩm	97
3.2.14.	Ảnh hưởng của khối lượng sản phẩm đến số lượng VSV có trong chế phẩm	97
3.2.15.	Ảnh hưởng của thời gian đóng gói đến số lượng VSV có trong chế phẩm	98
3.2.16.	Thành phần hỗn hợp chất mang trong 1000 kg môi trường nuôi cấy xốp	100
3.2.17.	Mật độ VSV trong chế phẩm theo thời gian (CFU/g trọng lượng khô)	101
3.2.18.	Mật độ VSV trong chế phẩm theo thời gian (CFU/g trọng lượng khô)	102
3.2.19.	Hoạt tính của VSV trong chế phẩm theo tháng	102
3.2.20.	Số lượng VSV cố định đạm, phân giải lân trong các mẫu thí nghiệm sử dụng chế phẩm HOTIEU HTD-03 tại đất trồng cà phê tại Tây Nguyên	102
3.2.21.	Tổng hợp chi phí cho sản xuất 1 tấn chế phẩm	103
3.3.1.	Thành phần VSV và hoạt tính của VSV trong chế phẩm	115
3.3.2.	Ảnh hưởng của thành phần môi trường lên mật độ vi khuẩn chế phẩm POLYFA TN3	116
3.3.3.	Ảnh hưởng của thành phần môi trường lên mật độ xạ khuẩn	117
3.3.4.	Trọng lượng tế bào khô sau các khoảng thời gian lên men	117
3.3.5.	Công thức môi trường nuôi cấy các chủng VSV được lựa chọn cho quá trình lên men chìm	118
3.3.6.	Sinh trưởng của các chủng VSV tuyển chọn thay đổi theo hàm lượng giống	119

3.3.7.	Sinh trưởng của các chủng VSV tuyển chọn theo nhiệt độ và thời gian	121
3.3.8.	Sinh trưởng của các chủng VSV tuyển chọn theo lưu lượng khí	122
3.3.9.	Sinh trưởng của các chủng VSV tuyển chọn theo tốc độ khuấy	124
3.3.10.	Mật độ của VSV trong dịch sau ly tâm (CFU/ml)	126
3.3.11.	Ảnh hưởng của thành phần cơ chất lên sinh khối vi khuẩn và xạ khuẩn nghiên cứu (CFU/g)	127
3.3.12.	Ảnh hưởng của thành phần cơ chất lên sinh khối vi nấm <i>P. oxalicum</i> N ₁ CS ₁ trk và <i>P. oxalicum</i> TiN ₁ sau 120 giờ lên men(CFU/g)	128
3.3.13.	Mật độ của các chủng vi khuẩn theo pH (CFU/g)	129
3.3.14.	Mật độ của xạ khuẩn <i>S. diastatochromogenes</i> CS _{5.11} cdk theo pH (CFU/g)	130
3.3.15.	Ảnh hưởng của pH lên sinh trưởng chủng vi nấm nghiên cứu (CFU/g)	130
3.3.16.	Ảnh hưởng của nhiệt độ lên mật độ của vi khuẩn (CFU/g)	131
3.3.17.	Ảnh hưởng của nhiệt độ lên mật độ xạ khuẩn (CFU/g)	131
3.3.18.	Ảnh hưởng của nhiệt độ lên mật độ vi nấm nghiên cứu (CFU/g)	132
3.3.19.	Ảnh hưởng của độ ẩm lên men xốp lên mật độ vi khuẩn (CFU/g)	133
3.3.20.	Ảnh hưởng của độ ẩm lên men xốp lên mật độ xạ khuẩn và vi nấm được tuyển chọn (CFU/g)	133
3.3.21.	Mật độ vi khuẩn nghiên cứu sau các khoảng thời gian lên men (CFU/g)	134
3.3.22.	Mật độ xạ khuẩn <i>S. diastatochromogenes</i> sau các khoảng thời gian lên men (CFU/g)	134
3.3.23.	Mật độ vi nấm nghiên cứu sau các khoảng thời gian lên men (CFU/g)	162
3.3.24.	Mật độ vi khuẩn và hoạt tính của <i>Bacillus subtilis</i>	163
3.3.25.	Mật độ vi khuẩn và hoạt tính của <i>Bacillus megaterium</i>	135
3.3.26.	Mật độ vi khuẩn <i>Bacillus flexus</i> và hoạt tính của <i>Bacillus flexus</i>	136
3.3.27.	Hoạt tính đối kháng của xạ khuẩn <i>S.diastatochromogenes</i> đối với nấm bệnh <i>F. oxysporum</i>	137
3.3.28.	Hoạt tính đối kháng của vi nấm <i>P. oxalicum</i> đối với nấm <i>F. oxysporum</i>	138
3.3.29.	Mật độ và các thông số bán thành phẩm hữu cơ	139
3.3.30.	Mật độ và các thông số của bán thành phẩm hữu cơ khi thay đổi các tỷ lệ chế phẩm phân hủy cellulose MICROCOM.	140

3.3.31.	Mật độ VSV sau lên men khi thay đổi tỷ lệ chế phẩm VSV gốc vào bán thành phẩm hữu cơ (CFU/g)	140
3.3.32.	Các thông số bán thành phẩm hữu cơ sau khi ủ	141
3.3.33.	Diễn biến pH trong khối ủ theo thời gian	142
3.3.34.	Các thông số bán thành phẩm hữu cơ sau khi ủ	143
3.3.35.	Các thông số bán thành phẩm hữu cơ sau khi ủ ở các độ ẩm khác nhau	143
3.3.36.	Mật độ và hoạt tính sinh học của các chủng <i>Bacillus</i> trong phân bón vi sinh POLYFA TN3 trong các mốc thời gian bảo quản	144
3.3.37.	Mật độ và hoạt tính đối kháng của xạ khuẩn <i>S.diastatochromogenes</i> CS5.11cdk đối với nấm bệnh <i>F. oxysporum</i>	145
3.3.38.	Hoạt tính đối kháng của vi nấm <i>P. oxalicum</i> N1CS1trk và <i>P. oxalicum</i> TiN1 đối với nấm bệnh	145
3.4.1.	Nguyên liệu dùng sản xuất phân bón NPK 15.18.18 nhả chậm	161
3.4.3.	Nguyên liệu dùng sản xuất phân bón NPK20.0.18 nhả chậm	164
3.4.4.	Kết quả đánh giá giới hạn độ ẩm tồn trữ của phân bón NPK 15.18.18	166
3.4.5.	Kết quả đánh giá giới hạn độ ẩm tồn trữ của phân bón NPK 20.0.18	167
3.4.6.	Kết quả đánh giá giới hạn độ ẩm tồn trữ của phân bón NPK 20.0.18	167
3.4.7.	Đánh giá khả năng hút ẩm của một số loại phân bón nhả chậm	168
3.5.1.	Quy trình tưới thuốc ANISAF SH01 để phòng trừ sâu bệnh cho cà phê thời kỳ kiến thiết	201
3.5.2.	Quy trình tưới thuốc ANISAF SH01 để phòng trừ sâu bệnh cho cà phê thời kỳ kinh doanh	201
3.5.3	Quy trình tưới thuốc ANISAF SH01 để phòng trừ sâu bệnh cho hồ tiêu thời kỳ kinh doanh	203
3.6.1.	Quy trình tích hợp 2 chế phẩm CAFE HTD-01 và thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 sử dụng cho mô hình trồng cà phê trên đất bazan, quy mô 1ha, mật độ 1100 cây/ha (Đề tài TN3/C01)	207
3.6.2.	Quy trình tích hợp 2 chế phẩm HOTIEU HTD-03 và thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 sử dụng cho mô hình trồng hồ tiêu trên đất bazan, quy mô 1ha, mật độ 1600 cây/ha (Đề tài TN3/C01)	208
3.6.3.	Thành phần của phân EAKMAT và POLYFA TN3	209
3.6.4.	Các công thức tích hợp các chế phẩm sinh hóa học vào cây cà phê	209

3.6.5.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu hóa tính của đất (tầng 0 – 30 cm)	213
3.6.6	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến các chỉ tiêu dinh dưỡng đất	214
3.6.7.	Biến động VSV có lợi trong đất trước và sau thí nghiệm	216
3.6.8.	Kết quả biến động nhóm vật sinh có hại trong đất trước và sau thí nghiệm	217
3.6.9.	Biến động hàm lượng một số chất dinh dưỡng trong lá	218
3.6.10.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng diệp lục trong lá cà phê giai đoạn kiến thiết	219
3.6.11.	Chỉ tiêu sinh trưởng cây cà phê kiến thiết trong các công thức tích hợp	220
3.6.12.	Các chỉ tiêu cấu thành năng suất và năng suất cà phê thời kỳ kiến thiết	222
3.6.13.	Ảnh hưởng của quy trình tích hợp đến tỷ lệ hạt cà phê nhân xuất khẩu	224
3.6.14.	Ảnh hưởng của công thức tích hợp tới diễn biến rệp sáp trên cà phê giai đoạn kiến thiết	225
3.6.15	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp tới diễn biến bệnh hại cà phê giai đoạn kiến thiết	225
3.6.16.	Sơ bộ thu nhập từ các ô thực hiện công thức thí nghiệm	227
3.6.17.	Chi phí tăng thêm khi sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho cà phê kiến thiết	227
3.6.18.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu hóa tính của đất (tầng 0 – 30 cm)	234
3.6.19.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến các chỉ tiêu dinh dưỡng đất	236
3.6.20.	Biến động VSV có lợi trong đất trước và sau thí nghiệm	237
3.6.21.	Kết quả biến động nhóm vật sinh có hại trong đất trước và sau thí nghiệm	238
3.6.22.	Biến động hàm lượng một số chất dinh dưỡng trong lá	239
3.6.23.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng diệp lục trong lá cà phê giai đoạn kiến thiết	240
3.6.24.	Chỉ tiêu sinh trưởng cây cà phê Kinh doanh trong các công thức tích hợp	240
3.6.25.	Các chỉ tiêu cấu thành năng suất và năng suất cà phê thời kỳ kinh doanh	242
3.6.26.	Ảnh hưởng của quy trình tích hợp đến tỷ lệ hạt cà phê nhân xuất khẩu	244
3.6.27.	Ảnh hưởng của công thức tích hợp tới diễn biến rệp sáp trên cà phê giai đoạn kinh doanh	245

3.6.28.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp tới diễn biến bệnh hại cà phê giai đoạn kinh doanh	246
3.6.28.	Sơ bộ thu nhập từ các ô thực hiện công thức thí nghiệm	247
3.6.29.	Chi phí tăng thêm khi sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho cà phê giai đoạn kinh doanh	247
3.6.30.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu hóa tính của đất (tầng 0 – 30 cm)	254
3.6.31.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến các chỉ tiêu dinh dưỡng đất	255
3.6.32.	Biến động VSV có lợi trong đất trước và sau thí nghiệm	257
3.6.33.	Biến động nhóm vật sinh có hại trong đất trước và sau thí nghiệm	258
3.6.34..	Biến động hàm lượng một số chất dinh dưỡng trong lá	258
3.6.35.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng điệp lục trong lá cà phê cuối giai đoạn kinh doanh	259
3.6.36.	Chỉ tiêu sinh trưởng cây cà phê giai đoạn sau kinh doanh trong các công thức tích hợp	260
3.6.37.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến chỉ tiêu cấu thành năng suất và năng suất cà phê thời kỳ sau kinh doanh	262
3.6.38.	Ảnh hưởng của quy trình tích hợp đến tỷ lệ hạt cà phê nhân xuất khẩu	263
3.6.39.	Ảnh hưởng của công thức tích hợp tới diễn biến rệp sáp trên cây cà phê cuối giai đoạn kinh doanh	264
3.6.40.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp tới diễn biến bệnh hại cà phê cuối giai đoạn kinh doanh	266
3.6.41.	Sơ bộ thu nhập từ các ô thực hiện công thức thí nghiệm	266
3.6.42.	Chi phí tăng thêm khi sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho cà phê cuối giai đoạn kinh doanh	267
3.6.43.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu hóa tính của đất (tầng 0 – 30 cm)	274
3.6.44.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến các chỉ tiêu dinh dưỡng đất	276
3.6.45.	Biến động VSV có lợi trong đất trước và sau thí nghiệm	277
3.6.46.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến biến động nhóm vật sinh có hại trong đất trước và sau thí nghiệm	279
3.6.47.	Biến động hàm lượng một số chất dinh dưỡng trong lá	280

3.6.48.	Chỉ tiêu sinh trưởng cây hồ tiêu trong các công thức tích hợp	281
3.6.49.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến chỉ tiêu cấu thành năng suất và năng suất hồ tiêu thời kỳ kinh doanh	282
3.6.50.	Chất lượng quả hồ tiêu (Lâm Đồng, 4/2019)	284
3.6.51.	Ảnh hưởng của phân bón đến phẩm cấp tiêu hạt	285
3.6.52.	Ảnh hưởng của công thức tích hợp tới diễn biến rệp sáp trên cây hồ tiêu	286
3.6.53.	Ảnh hưởng của các công thức tích hợp tới diễn biến bệnh hại hồ tiêu	286
3.6.54.	Sơ bộ thu nhập từ các ô thực hiện công thức thí nghiệm	287
3.6.55.	Chi phí tăng thêm khi sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho hồ tiêu giai đoạn kinh doanh	288
3.7.1.	Kết quả mô hình tích hợp các chế phẩm sinh, hoá học trên cây cà phê giai đoạn kiến thiết	285
3.7.2.	Kết quả mô hình tích hợp các chế phẩm sinh, hoá học trên cây cà phê giai đoạn kinh doanh	297
3.7.3.	Kết quả mô hình tích hợp các chế phẩm sinh, hoá học trên cây cà phê giai đoạn cuối kinh doanh	298
3.7.4.	Kết quả mô hình tích hợp các chế phẩm sinh, hoá học trên cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh	300

DANH MỤC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

Hình	Tiêu đề	Trang
1.1	Quá trình nâng cấp quy mô công nghệ sản xuất các chế phẩm vi sinh	31
3.0.1.	Một số hình ảnh các chủng đã mọc sau khi phân lập	42
3.0.2.	Hình ảnh khuẩn lạc của 1 số chủng xạ khuẩn	45
3.0.3.	Hình ảnh khuẩn lạc của 1 số chủng vi khuẩn	45
3.0.6.	Tế bào VSV soi dưới vật kính (10X)	45
3.0.7.	Khả năng đối kháng của VSV với nấm <i>Fusarium sp</i>	46
3.0.8.	Nồng độ IAA của 30 chủng VSV nghiên cứu	46
3.0.9.	Kết quả phân loại VSV sử dụng kit chuẩn CHB	47
2.0.10.	Điện di đồ chế phẩm PCR của ba chủng vi khuẩn	50
3.0.11.	Trình tự gen 16S rRNA của chủng 11R01 trên GenBank	50
3.0.12.	Trình tự gen 16S rRNA của chủng 18R01 trên GenBank	51
3.0.13.	Trình tự gen 16S rRNA của chủng T6T6 trên GenBank	51
3.0.14.	Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng của 10 chủng xạ khuẩn	53
3.0.15.	Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng của 5 chủng vi khuẩn	53
3.0.16.	Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm	56
3.0.17.	Hình ảnh cây cà phê ở công thức ĐC, TN1 và TN2 sau 28 ngày lây nhiễm	59
3.0.18.	Sinh trưởng cây cà phê trong thí nghiệm	59
3.1.1.	Sơ đồ quy trình nhân giống trong nồi lên men xốp.	66
3.1.2.	Sơ đồ quy trình sản xuất chế phẩm CAFE-HTD01	74
3.2.1.	Sơ đồ quy trình nhân giống trong nồi lên men xốp.	92
3.2.2.	Sơ đồ quy trình sản xuất chế phẩm HOTIEU HTD-03	100
3.3.1.	Quy trình tạo chế phẩm POLYFA TN3	146
3.4.1.	Quy trình sản xuất phân bón NPK 15.18.18 nhà chậm	162
3.4.2.	Qui trình sản xuất phân bón nhà chậm NPK 20.0.18	165
3.6.1.	Sơ đồ quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho cây cà phê giai đoạn kiến thiết	228
3.6.2.	Sơ đồ quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho cây cà phê giai đoạn kinh doanh	248

3.6.3.	Sơ đồ quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho cây cà phê cuối giai đoạn kinh doanh	268
3.6.4.	Sơ đồ quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh	289

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

BVTV:	Bảo vệ thực vật
CT:	Công thức
CSB:	Chỉ số bệnh
DNA:	Deoxyribonucleic acid
ĐC:	Đối chứng
KL:	Khối lượng
LB:	Môi trường Luria Bertani
MH:	Mô hình
MT:	Môi trường
MPA:	Môi trường thạch-thịt-pepton
OD:	Mật độ quang học
PGL:	Phân giải lân
RNA:	Ribonucleic acid
TCN:	Tiêu chuẩn ngành
TLB:	Tỷ lệ bệnh
TN:	Thí nghiệm
VK:	Vi khuẩn
XK:	Xạ khuẩn
VSV:	Vi sinh vật

MỞ ĐẦU

Trong nhiều thập kỷ, nhân loại đã sản xuất phần lớn lương thực của mình thông qua nông nghiệp công nghiệp - một hệ thống thống trị bởi các trang trại lớn trồng cùng một loại cây năm này qua năm khác, sử dụng một lượng lớn thuốc trừ sâu và phân bón hóa học gây hại cho đất, nước, không khí và khí hậu. Hệ thống này không được xây dựng để tồn tại lâu dài, bởi vì nó tiêu tốn và làm suy giảm các tài nguyên mà nó phụ thuộc vào. Ngày càng có nhiều quốc gia, nhà khoa học và nông dân đang đi theo con đường phát triển nông nghiệp bền vững hướng tới một hệ thống canh tác bền vững hơn về môi trường, kinh tế và xã hội.

Trong nông nghiệp, tính bền vững là một ý tưởng phức tạp với nhiều khía cạnh, bao gồm bền vững về kinh tế, bền vững về xã hội và đặc biệt là tính bền vững về môi trường. Tính bền vững về môi trường trong nông nghiệp có nghĩa là quản lý tốt các hệ thống tự nhiên và tài nguyên mà các trang trại phụ thuộc vào, bao gồm: xây dựng và duy trì đất khỏe mạnh, sử dụng hợp lý và tiết kiệm tài nguyên nước, giảm thiểu ô nhiễm không khí, nước, khí hậu và thúc đẩy đa dạng sinh học. Để đạt được những mục tiêu này cần thiết sử dụng các nguyên tắc nông học, các vật tư nông nghiệp mang tính bền vững giúp tránh các tác động gây hại mà không làm giảm năng suất hoặc lợi nhuận.

Tạo ra một nguồn đất khỏe mạnh và áp dụng phương pháp ứng phó với dịch hại cây trồng theo cách an toàn với con người - thân thiện với môi trường là những yếu tố then chốt của nông nghiệp bền vững. Sự cần thiết phải nâng cao chất lượng cho đất, bồi bổ dinh dưỡng cho đất trước, trong hoặc sau mỗi vụ mùa theo cách bền vững và tính cấp thiết phải ứng phó với các loại sâu dịch hại cây theo cách an toàn với con người - thân thiện với môi trường đã làm hình thành nhu cầu sử dụng các vật tư nông nghiệp và mô hình canh tác theo hướng này.

Sử dụng trong canh tác các vật tư nông nghiệp có nguồn gốc sinh học (sản phẩm chứa VSV hữu ích, thuốc trừ dịch hại sinh học ...) hiện đang là xu hướng chung của nước ta cũng như nhiều nước trên thế giới. Các sản phẩm này mang nhiều đặc điểm phù hợp với mục tiêu phát triển nông nghiệp bền vững, bao gồm: không gây ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe con người, vật nuôi, cây trồng và môi trường sinh thái; có tác dụng cân bằng hệ sinh

thái (VSV, dinh dưỡng) trong môi trường, không làm hại kết cấu đất và thoái hóa đất mà còn góp phần làm tăng độ phì nhiêu của đất; có tác dụng đồng hóa chất dinh dưỡng, góp phần tăng năng suất và chất lượng nông sản phẩm; có tác dụng tiêu diệt côn trùng gây hại, giảm thiểu bệnh hại, tăng khả năng đề kháng bệnh của cây trồng mà không làm ảnh hưởng đến môi trường như các loại thuốc BVTV có nguồn gốc hóa học; có khả năng phân hủy, chuyển hóa các chất hữu cơ bền vững, các phế thải sinh học, nông nghiệp, công nghiệp, góp phần làm sạch môi trường.

Sản xuất cà phê và hồ tiêu tại Tây Nguyên sau một thời gian phát triển với cường độ thâm canh cao hiện đang bộc lộ nhiều yếu tố kém bền vững. Việc khai thác quá mức đất trồng trọt, sử dụng sai khoa học và quá chú trọng vào việc sử dụng phân bón hoá học và các thuốc BVTV hoá học nhằm triệt để tăng năng suất và hiệu quả kinh tế của cây trồng dẫn đến việc đất trồng bị bóc lột quá mức và không thể phục hồi độ phì cần thiết cho cây trồng, đất bị thoái hoá trầm trọng. Các số liệu nghiên cứu về thổ nhưỡng cho thấy rất nhiều diện tích đất trồng đã và đang bị trai cứng hoá, mất dần khả năng giữ ẩm, độ pH thay đổi theo chiều hướng bất lợi cho cây, độ toai xộp và độ mùn cần thiết cho cây trồng đang bị suy kiệt dần, hệ VSV đất bị huỷ diệt dẫn đến việc các tác nhân tự nhiên để phục hồi độ phì cho đất trồng không còn.

Để phát triển cà phê và hồ tiêu bền vững ở Tây Nguyên, cần thiết phải có những mô hình canh tác, những vật tư nông nghiệp phù hợp đáp ứng được nhu cầu của hoạt động sản xuất.

Trên lộ trình phát triển nghiên cứu triển khai ứng dụng, để đưa được các kết quả nghiên cứu từ phòng thí nghiệm tới ứng dụng trong thực tiễn cần trải qua những giai đoạn nghiên cứu phát triển ở những mức độ và quy mô khác nhau, bắt đầu từ quy mô phòng thí nghiệm đến quy mô pilot và cuối cùng là quy mô công nghiệp.

Các đề tài nghiên cứu trong Chương trình Tây Nguyên 3 giai đoạn 2011-2015 đã nghiên cứu phát triển thành công nhiều chế phẩm sinh học rất có giá trị trong phát triển nông nghiệp Tây Nguyên theo hướng bền vững. Trong đó phải kể đến các chế phẩm vi sinh (CAFE HTD-01; HOTIEU HTD-03; POLYFA TN3), phân bón nhà chậm, thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01. Các chế phẩm đã được hoàn thiện ở những mức độ công nghệ và quy mô khác nhau, bao gồm cả quy mô phòng thí nghiệm (CAFE HTD 01, HOTIEU HTD-03, phân bón nhà chậm), quy mô pilot (POLYFA TN3)... Để tiến tới đưa được các

sản phẩm vào phục vụ hoạt động sản xuất thực tế cần nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất, hoàn thiện quy trình sử dụng nhằm từng bước nâng cấp quy mô công nghệ cho các sản phẩm. Cụ thể là cần nâng cấp từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô pilot cho các chế phẩm CAFE HTD-01, HOTIEU HTD-03, phân bón nhả chậm; nâng cấp từ quy mô pilot lên quy mô công nghiệp cho chế phẩm vi sinh cải tạo đất POLYFA TN3. Đồng thời chuẩn hóa chất lượng và hoàn thiện quy trình sử dụng cho các sản phẩm theo các quy định về quản lý chất lượng của nhà nước.

Đề tài: “Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh CAFE HTD-01 và HOTIEU HTD-03 và sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh, hóa học nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên” mã số TN16/C02 được thực hiện với những mục tiêu cụ thể:

- (1) Hoàn thiện được quy trình sản xuất các chế phẩm vi sinh CAFE HTD-01, HOTIEU HTD-03 (quy mô pilot), chế phẩm POLYFA TN3 (quy mô công nghiệp), phân bón nhả chậm (quy mô pilot).
- (2) Tiến hành khảo nghiệm và xây dựng quy trình sử dụng cho các chế phẩm CAFE HTD-01, HOTIEU HTD-03, POLYFA TN3, phân bón nhả chậm và thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trên cây cà phê và hồ tiêu tại Tây Nguyên.
- (3) Nghiên cứu và phát triển được chế phẩm VSV nội sinh kích thích sinh trưởng và ức chế tuyến trùng trên cây cà phê (chế phẩm HTD-CNSH-CF ở quy mô phòng thí nghiệm)
- (4) Xây dựng được qui trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh, hóa học nhằm giảm phân bón hóa học từ 25-35%, thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 thay thế từ 30% - 60% thuốc trừ sâu hóa học trong canh tác bền vững cây cà phê, hồ tiêu nâng cao chất lượng đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm đối với cà phê và hồ tiêu thương phẩm.
- (5) Triển khai các mô hình trình diễn ở diện rộng ứng dụng các chế phẩm sinh học nhằm giảm phân bón hóa học từ 25- 35%, thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 thay thế từ 30% - 50% thuốc trừ sâu hóa học đối với cây cà phê và hồ tiêu. Góp phần tăng năng suất cà phê và hồ tiêu, giảm thời gian chuyển tiếp từ cây cà phê kiến thiết sang giai đoạn kinh doanh, kéo dài tuổi thọ của cây cà phê kinh doanh. Góp phần cải tạo đất hướng tới phát triển bền vững cây cà phê tại Tây Nguyên.

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. ỨNG DỤNG CÁC CHẾ PHẨM SINH HOÁ HỌC TRONG PHÁT TRIỂN NÔNG NGHIỆP BỀN VỮNG

1.1.1. Chế phẩm nguồn gốc VSV

Trong lĩnh vực nông nghiệp, Việt Nam đang hướng tới phát triển một nền sản xuất nông nghiệp bền vững, theo hướng hữu cơ, trong đó vi sinh vật đóng một vai trò vô cùng to lớn. Việt Nam đã có những nghiên cứu, ứng dụng vi sinh vật trong sản xuất nông nghiệp, tạo nhiều sản phẩm có ích, chất lượng tốt. Các ứng dụng công nghệ vi sinh trong nông nghiệp tại Việt Nam phải kể đến như: i) Phân giải các hợp chất hữu cơ; ii) Phân giải lân; iii) phân giải kali; iv) Phân giải protein, lipid, tinh bột...; v) Sinh các chất kích thích sinh trưởng thực vật; vi) Cố định nitơ tự do; vii) Đối kháng bệnh thực vật; viii) Sinh polysaccharit; ix) Vi sinh vật khử mùi hôi,...

Thông tin về một số loại VSV có ích có liên quan tới nội dung đề tài được tổng hợp dưới đây:

1.1.1.1. VSV chức năng cố định đạm

VSV cố định nitơ là các nhóm có khả năng chuyển hóa khí nitơ dồi dào trong không khí (79%) thành dạng NH_4^+ cung cấp cho cây. Có nhiều loài VSV có khả năng cố định nitơ từ không khí. Đáng chú ý có các loài: tảo lam (*Cyanobacterium*), VK *Azotobacter*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*; XK *Actinomyces*, *Klebsiella*. Phần lớn các loài VK cố định đạm thường sống cộng sinh với các cây họ đậu, chúng xâm nhập vào rễ cây và sống cộng sinh trong đó, tạo thành các nốt sần ở rễ cây. Chúng sử dụng chất hữu cơ của cây để sinh trưởng đồng thời hút đạm từ không khí để cung cấp cho cây, một phần tích lũy lại trong cơ thể chúng. VK cố định N tự do gồm: VK cố định nitơ tự do hiếu khí: (*Azotobacter* và *Beijeriniskia* sp.) và VK cố định nitơ kỵ khí (VK thuộc nhóm *Clostridium*).

VK *Beijeriniskii* được Stacke (1983) phân lập ở ruộng lúa nước pH rất chua. VK *Beijeriniskii* có hình cầu, hình bầu dục hoặc hình que, gram âm không sinh nha bào, hiếu khí, một số loài có tiêm mao có khả năng di động được. Kích thước tế bào dao động 0,5 – 2,0 x 1,0 – 4,5 (μm), khuẩn lạc rất nhầy, lồi, không màu hoặc màu nâu tối khi già, không tạo nang xác. VK *Beijeriniskii* có khả năng đồng hóa tốt các loại đường đơn, đường kép, cứ tiêu tốn 1 gam đường gluco nó có khả năng cố định được 5 – 10 mgN. Khác với VK *Azotobacter*, VK *Beijeriniskii* có tính chống chịu cao với acid, nó có thể phát triển ở môi

trường pH = 3, nhưng vẫn phát triển ở pH trung tính hoặc kiềm yếu, thích hợp ở độ ẩm 70 – 80%, ở nhiệt độ 25 -28 °C.

VK *Azotobacter* được Beyjeirinck (1901) phân lập từ đất là một loài VSV có khả năng cố định nitơ phân tử cao. VK *Azotobacter* khi nuôi cấy ở môi trường nhân tạo thường biểu hiện tính đa hình, khi còn non có tiêm mao, có khả năng di động được nhờ tiêm mao. Là VK hình cầu (song cầu khuẩn), gram âm không sinh nha bào, hảo khí, có kích thước tế bào dao động 1,5 – 5,5 (µm), khuẩn lạc màu trắng trong, lồi, nhày. Khi già khuẩn lạc có màu vàng lục hoặc màu nâu thẫm, tế bào được bao bọc lớp vỏ dày và tạo thành nang xác, gặp điều kiện thuận lợi nang xác này sẽ nứt ra và tạo thành các tế bào mới. VK *Azotobacter* thích ứng ở pH 7,2 – 8,2, ở nhiệt độ 28 – 30 °C, độ ẩm 40 -60%. *Azotobacter* đồng hóa tốt các loại đường đơn và đường kép, cứ tiêu tốn 1 gam đường glucozo nó có khả năng đồng hóa được 8 -18 mgN. Ngoài ra *Azotobacter* còn có khả năng tiết ra một số vitamin thuộc nhóm B như B1, B6..., một số acid hữu cơ như: acid nicotinic, acid pentotenic, biotin, auxin.

Theo Maryenko (1964) và Arun (2007) thì mật độ VK *Azotobacter* nói chung là thấp trong vùng rễ của cây trồng và trong đất hoang. Kết quả phân lập và tuyển chọn một số chủng VSV cố định nitơ tạo phân bón sinh học bón cho cây trồng như lúa, ngô, mía và rau cho thấy rằng các loại phân bón sinh học có khả năng tổng hợp nitơ rất ổn định và không gây hại cho môi trường, đảm bảo chất lượng nông sản sạch.

Một số VSV khác cũng có khả năng cố định nitơ không khí khi sống cộng sinh với thực vật đó là VK lam (*Cyanobacteria*) cộng sinh với bèo hoa dâu có khả năng cố định được 20 -30 kgN/ha/vụ ở lúa ngập nước. Bên cạnh đó còn có một số loài *Fankia* (XK) sống cộng sinh với 7 họ bao gồm 160 loài thực vật thân gỗ cũng hình thành nốt sần và có khả năng cố định đạm trong không khí.

VK *Clostridium* được phân lập bởi Vinogradskii (1939) là một loài VK yếm khí, có khả năng cố định nitơ phân tử cao. VK *Clostridium* đồng hóa tốt tất cả các nguồn thức ăn nitơ vô cơ và hữu cơ, cứ 1 gam đường gluco thì đồng hóa được 5 -15 mgN. Đây là loài trực khuẩn gram dương. Kích thước tế bào dao động 0,7 – 1,3 x 2,5 – 7,5 (µm) khuẩn lạc thuộc nhóm S, màu trắng đục, lồi, nhày. VK *Clostridium* ít mẫn cảm với môi trường, nhất là môi trường thừa P, K, Ca và có tính ổn định với pH, nó có thể phát triển ở pH 4,5 – 9, độ ẩm thích hợp 60-80%, nhiệt độ 25-30°C. VK *Clostridium* có nhiều loài khác nhau: *Clostridium butyrium*; *Clostridium beijerinckii*; *Clostridium pectinovorum*...

VK *Paenibacillus* theo Timmusk (1999) được phân lập từ rễ cây và trong đất có khả

năng cố định nitơ tự do, thúc đẩy kích thích tăng trưởng thực vật sản xuất enzym thủy phân, sản xuất thuốc kháng sinh chống lại VSV gây hại cho con người và gây bệnh thực vật. Ngoài ra nó cũng có thể giúp cây hấp thu phospho và tăng cường độ xốp cho đất. VK này có một vai trò quan trọng trong chức năng hệ sinh thái và vai trò tiềm năng trong quá trình công nghiệp. Huo và cs., (2010) cho rằng *Paenibacillus* là một loại VK cố định đạm gram dương kỵ khí có kích thước bào tử 0,6 - 3,0 μm , chịu nhiệt độ cao có thể ứng dụng sản xuất chế phẩm VSV bón cho các vùng khí hậu có nhiệt độ cao và cần cỗi.

Sartaj và Wani (2012) cho rằng VK *Azotobacter chroococcum* là thành phần không thể thiếu giúp cho sự màu mỡ của đất. Chúng như những nhà máy nhỏ tổng hợp nitơ, auxin, cytokinin và các chất GA giúp tăng năng suất, sinh trưởng của các cây nông sản rất đáng kể. Khi nuôi cấy VK *A. Chroococcum* ở 28 °C cho khả năng tổng hợp nitơ là lớn nhất. Ở nhiệt độ 15 °C - 25 °C chủng VK này vẫn có khả năng tổng hợp nitơ nhưng không ở mức độ tối ưu. Khi ở nhiệt độ thấp 10 °C -15 °C khả năng tổng hợp nitơ của chủng VK trên là kém.

1.1.1.2. VSV chức năng phân giải lân

Khoảng 4.800 chủng VSV có khả năng phân giải lân (Phospho) khó tan đã được phân lập và mô tả đặc điểm bởi Johri và cs., (1999). Khả năng phân giải lân của các VSV ở các loại đất là rất khác nhau phụ thuộc vào nguồn gốc đất. Bản thân các loài VK có chứa một lượng phospho, đó là nguồn dinh dưỡng đáng kể cho cây trồng. Việc sử dụng VSV phân giải lân không những có tác dụng cải tạo đất mà còn làm tăng lượng lân cho cây trồng và đem lại kết quả tốt cho mùa vụ.

VK *Paenibacillus* là loài không gây bệnh cho người được phân lập trong rễ cây và trong đất bởi Timmusk và cs., (2005). Đây là một VK gram dương, tế bào hình que, chuyển động qua roi peritrichous, có khả năng phân giải lân khó tan trong đất rất mạnh, ngoài ra có còn có khả năng sinh tổng hợp IAA – một chất kích thích tăng trưởng thực vật.

Các VSV có khả năng hòa tan lân khó tan thành dễ tan bao gồm các chi thuộc nấm sợi, tảo lam, XK, VK, các nghiên cứu cho thấy các chủng có nguồn gốc từ VK có hoạt tính cao và hoạt tính ổn định theo năm tháng.

1.1.1.3. VSV có tác dụng trừ sâu bệnh hại

Dịch hại ở vùng rễ của cây cà phê, hồ tiêu, chè do rất nhiều loại VSV gây ra như nấm, VK, tuyến trùng, rệp sáp, sâu non bọ cánh cứng... và đây đều là những đối tượng gây hại nghiêm trọng và ảnh hưởng lớn đến năng suất các cây trồng. Trong các năm qua đã có nhiều kết quả sử dụng các VSV đối kháng để phòng trừ các loại bệnh hại các cây trồng, điển hình

là sử dụng các chế phẩm nấm *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Metarhizium*, *Beuveria*...., VK Bt (*Bacillus thuringiensis* ...); vi rút *Nucleopolyhedrois virus* (NPV); tuyến trùng EPN (Entomopathogenic nematodes),...

Cũng như các động vật khác, côn trùng cũng bị bệnh do nhiều loài VSV gây ra. VSV gây bệnh cho côn trùng là một nguồn thiên địch tự nhiên quan trọng để điều hòa quần thể các loài côn trùng hại cây trồng. Nhiều loại chế phẩm trừ sâu sinh học được phát triển từ nhóm các nhóm VSV có ích như nấm, VK, vi rút, tuyến trùng. Hơn 1000 loài VSV gây bệnh đã phân lập được từ các loài côn trùng. Chúng thuộc nhiều nhóm sinh vật như virus, nấm, VK, nguyên sinh động vật... Tuy vậy, rất ít loài trong số chúng được nghiên cứu phát triển thành chế phẩm sinh học để trừ sâu hại.

Nhiều loài VSV gây bệnh cho côn trùng như VK, nấm có thể sản xuất được theo kiểu lên men công nghiệp trong môi trường lỏng rẻ tiền. Sản phẩm được tạo dạng và đóng gói có thể bảo quản được trong vài tháng đến hàng năm. Những đặc tính này tạo điều kiện thuận lợi cho việc sản xuất một số VSV gây cho bệnh côn trùng ở quy mô cộng đồng nhỏ.

Các chế phẩm sinh học BTVT sản xuất từ nấm: Nấm gây bệnh cho côn trùng (entomopathogenic fungi) là một nhóm lớn nhất trong các VSV gây bệnh cho côn trùng. Hầu như tất cả các nấm gây bệnh cho côn trùng hại đều thuộc bộ Hyphomycetes (Robert, Humber, 1981), mặc dù nấm gây bệnh cho côn trùng có ở tất cả các bộ nấm. Cho đến cuối thập niên 1980 đã mô tả được hơn 750 loài nấm gây bệnh cho côn trùng (Pavlyushin, 1987). Những giống nấm gây bệnh côn trùng quan trọng gồm *Entomophthora*, *Coelomomyces*, *Massospora*, *Metarhizium*, *Beuveria*, *Verticillum*, *Hirsutella*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Isaria*, *Aspergillus*, *Spicaria*. Trong các sinh cảnh cây nông nghiệp, phát hiện được ít loài nấm gây bệnh cho côn trùng thuộc bộ Hyphomycetes hơn so với sinh cảnh nhiệt đới tự nhiên. Những nấm phổ biến nhất thu được trong sinh cảnh cây nông nghiệp gồm các loài thuộc giống *Metarhizium*, *Beuveria*, *Hirsutella*, *Nomuraea*, *Paecilomyces* (Samson, 1981).

- Nấm có phổ ký chủ rộng nhất trong các VSV gây bệnh cho côn trùng. Có nhiều công bố về phổ ký chủ rất rộng của các loài nấm gây bệnh côn trùng. Vì vậy, nấm gây bệnh cho côn trùng có thể sử dụng để trừ nhiều loài côn trùng hại. Tuy nhiên, những nghiên cứu trong phòng thí nghiệm đã chứng tỏ rằng các mẫu nấm phân lập khác nhau của cùng một loài cũng có thể có sự thay đổi về mức độ tác dụng. Mẫu phân lập có độc tính cao hơn cả là đối với vật chủ mà từ đó phân lập ra mẫu đó đầu tiên.

- Đầu những năm 1950, nấm Bb được thử nghiệm đồng ruộng quy mô nhỏ để trừ nhiều

loài côn trùng hại khác nhau. Từ đầu thập niên 1970, nấm này được lên men lượng lớn ở Liên Xô cũ, Tây Âu, chủ yếu để trừ bọ cánh cứng hại khoai tây. Sinh khối nấm được tạo chế phẩm dạng bột hoặc dạng viên, gần đây được thu các bào tử thuần khiết. Những chế phẩm như vậy chứa tới 1.10^{11} - 1.10^{13} bào tử /g và phun bằng dung dịch nước (Lomer và cs., 1997). Yuen và cs., (1994) đã sử dụng phối hợp 2 chế phẩm sinh học GM460 (*Rhizoctonia* sp.) và TRBG (*Gliocladium virens*) để phòng trừ bệnh lở cổ rễ do nấm *Rhizoctonia solani* đã làm giảm tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng chỉ còn 14 -26% so với đối chứng 30 - 36%.

- Các loài nấm *Metarhizium* thường có các chủng khác nhau và mỗi chủng thích nghi cao đối với một nhóm côn trùng nhất định. Cho đến năm 1992, trong bộ sưu tập nấm ở Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ có khoảng 265 nguồn phân lập thuộc chủng *M.a.var anisopliae*; 45 nguồn phân lập của *M. flavoviride* và 410 nguồn phân lập của nấm *B.bassiana* (Kooyman và cs., 1992). Trong nghiên cứu ứng dụng, vấn đề quan trọng hàng đầu là phải tuyển chọn được các chủng nấm có hiệu lực cao đối với đối tượng dịch hại cần phòng trừ, có nghĩa là cần phải nghiên cứu tìm kiếm những genotype của các nấm côn trùng ở nơi đang tồn tại loài vật chủ của nó là sâu hại cần phòng trừ (Kooyman và cs., 1992). Nấm *M. anisopliae* được sử dụng rộng rãi để phòng chống loài *Mahanarva postica* hại mía ở Brazil từ cuối thập niên 1980 (Goettel, 1992).

- Bào tử nấm *M. anisopliae* đã được phối chế tạo chế phẩm có tên thương mại là “BioBlast” được sử dụng để kiểm soát mối, mọt, côn trùng gây hại sử dụng ở dạng bả nấm hoặc phun vào ổ dịch, trộn với đất với liều lượng 10^8 bào tử/g đất sẽ kiểm soát được mối mọt đạt hiệu quả 3 tháng đến 3 năm trong điều kiện lạnh, mát, khô, ẩm ướt. Bào tử nấm gây chết 100% côn trùng sau 48 giờ trong phòng thí nghiệm và sau 10 ngày xử lý trên đồng ruộng (Rath, 1995).

- Nấm *B. bassiana* là loài nấm rất không đồng nhất về bản chất di truyền, những nhóm mẫu phân lập đồng nhất hơn cả là những mẫu phân lập từ cùng một vùng địa lý và từ các vật chủ thuộc cùng một bộ côn trùng. Kết quả tương tự thu được đối với nấm *Ma var. anisopliae* và *var.majus* (Lomer và cs., 1997).

- Nấm *B. bassiana* (Bals) Vuill là loại nấm có lợi, lây nhiễm nhiều loài côn trùng bộ cánh vảy và bộ cánh màng, những côn trùng rất phổ biến gây hại trong nông nghiệp. Tiềm năng này đã và đang được khai thác, các chủng nấm được phân lập từ đất hoặc từ xác côn trùng phân bố ở các khu vực địa lý khác nhau trên thế giới. Việc diệt côn trùng bằng sử

dụng các bào tử nấm đã được công bố từ lâu (Jones và cs., 1996).

- Một số chủng nấm thuộc *B. bassiana* phân lập từ đất, xác côn trùng cho thấy có độc tính mạnh với cả mối *Cryptotermes brevis* Walker và *Odontotermes brunneus* Hagen. Ngoài khả năng gây chết, nấm này còn có khả năng sinh trưởng và tổng hợp bào tử rất nhanh trên cơ thể ký chủ và trong phòng thí nghiệm in vitro, đây là một đặc tính rất quan trọng cần chú ý khi sử dụng chế phẩm của nấm này. Việc phân tán, lây lan bào tử nấm diễn ra nhanh, rộng từ mối bị nhiễm nấm sang các mối chưa nhiễm nấm thông qua sự tiếp xúc giữa các cá thể trong cộng đồng tổ mối (Almeida và cs., 1997).

- Chế phẩm sinh học sản xuất từ nấm *Lecanicillium lecanii* (Zimmerman) Viegas có khả năng ký sinh nhiều loài côn trùng bộ cánh đều, bộ cánh cứng, bộ cánh thẳng và cánh phấn. Các chế phẩm này đã được sử dụng để quản lý sâu hại cây trồng, giun tròn nang gây hại đậu tương, nấm mốc hại dưa chuột, và các nấm gi (Whipps, 1993). Ngoài ra các chế phẩm từ nấm này còn có thể sử dụng hỗn hợp với một số loại thuốc trừ sâu, trừ bệnh nấm để diệt nhiều loài sâu bệnh hại cây trồng; Phương pháp phổ biến nhất đánh giá độc tính của nấm ký sinh là phun, nhúng hoặc cho côn trùng ăn dịch bào tử nấm ký sinh.

Các chế phẩm sinh học BVTV sản xuất từ VK: Như các chế phẩm thuốc trừ sâu sinh học Bt, VbT (*Bacillus thuringiensis* var.) thuộc nhóm thuốc trừ sâu sinh học có nguồn gốc VK dùng để trừ các loài sâu hại thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera hiệu quả (Knowles BH, 1994).

Các chế phẩm sinh học BVTV sản xuất từ virus: Các chế phẩm này chiết suất từ Nucleopolyhedrovirus (NPV), chế phẩm này đặc trị đối với loài sâu xanh da láng, sâu khoang hại trên các loại cây trồng.

Các chế phẩm sinh học BVTV sản xuất từ tuyến trùng: Tuyến trùng Entomopathogenic nematodes (EPN) ký sinh gây bệnh cho côn trùng, khả năng diệt sâu nhanh, phổ tác động rộng, an toàn cho người, động vật và không gây kháng thuốc sâu hại. Các chế phẩm EPN (Biostar 70 thử nghiệm trừ bọ hung đen hại mía đạt hiệu lực 50 - 70%)

1.1.1.4. VSV nội sinh

a. Khái niệm

VSV nội sinh là VSV sống trong mô thực vật được tìm thấy ở vùng rễ, thân, lá, quả của thực vật. Vùng rễ là nơi xuất phát nhiều VK nội sinh chui vào rễ, thân, lá để sống nội sinh; sau khi xâm nhập vào cây chủ có thể tập trung tại vị trí xâm nhập hoặc di chuyển đi khắp nơi trong cây đến các hệ mạch của rễ, thân, lá, hoa (Zinniel và cs., 2002), thúc đẩy

các quá trình chuyển hóa trong cây, sự phát triển lông rễ một cách mạnh mẽ và giảm sự kéo dài rễ. Một số nhóm VSV nội sinh không gây hại hay gây bệnh cho cây chủ, mà trái lại chúng có thể thúc đẩy sự phát triển của cây trồng bằng cách sản xuất các chất kích thích sự sinh trưởng thực vật và sự cố định đạm từ không khí (Sturz và cs., 2000). Hơn nữa, một số dòng VSV nội sinh có thể cải thiện sự phát triển bệnh (Benhamou và cs., 1996) và kích thích sự chống chịu của cây trồng đối với sự tác động của các nhân tố vô sinh và hữu sinh (Hallmann và cs., 1997).

Thực vật có thể thay đổi vùng rễ của chúng nhờ sự hấp thu các chất dinh dưỡng, độ ẩm và oxy từ vùng rễ ; và các chất do rễ tiết ra (El-Shatnawi và Makhadmeh, 2001). Đặc tính quan trọng của các dịch rễ là có tỉ lệ C/N cao nên có thể đẩy mạnh sự phong phú của các VK cố định đạm trong vùng rễ (Döbereiner, 1974). Nhờ sự đa dạng của cây trồng và sự đa dạng của vùng rễ nên các nhà khoa học đã khám phá được nhiều nhóm VK nội sinh khác nhau từ các loại cây khác nhau. VSV nội cộng sinh thúc đẩy thực vật tăng trưởng, tăng năng suất và đóng vai trò là một tác nhân điều hòa sinh học, sản xuất hàng loạt các sản phẩm tự nhiên có lợi cho thực vật ký chủ mà ta có thể khai thác những tác nhân đó để ứng dụng trong y học, nông nghiệp hay công nghiệp. Ngoài ra nó còn có tiềm năng loại bỏ các chất gây ô nhiễm trong đất bằng cách tăng cường khả năng khử độc trên thực vật và làm cho đất trở nên màu mỡ thông qua chu trình photphat và cố định đạm. Ngày càng có nhiều quan tâm trong việc phát triển các ứng dụng tiềm năng công nghệ sinh học của VSV nội cộng sinh để phát triển các giống cây trồng có khả năng khử độc đồng thời có khả năng sản xuất sinh khối và nhiên liệu sinh học.

Khái niệm VSV nội sinh được đưa ra khi Smith và cs., (1957) phân lập thành công XK *Micromonospora* sp. có khả năng ức chế nấm gây bệnh *Fusarium oxysporum* trong mô cây cà chua không nhiễm bệnh. Từ đó, đã có nhiều định nghĩa khác nhau về VSV nội sinh nhưng định nghĩa của Bacon và White (2000) : “VSV nội sinh là những VSV sinh trưởng trong mô tế bào thực vật, không gây ra những hiệu ứng xấu tới cây chủ” đã được các nhà VSV học thừa nhận. Theo tài liệu, định nghĩa này hàm chứa một ý rất quan trọng : VSV nội sinh không những không gây ảnh hưởng mà còn tăng cường khả năng trao đổi chất, kích thích sinh trưởng, miễn dịch cho vật chủ bằng cách tổng hợp các sản phẩm trao đổi chất... (Adhikari và Bansnyat, 1999).

Trong số các VSV nội sinh, XK được chú ý bởi khả năng tổng hợp kháng sinh ức chế VSV gây bệnh. Song song với tác dụng được lý thu nhận từ XK nội sinh, một số nhà sinh

vật học đã nghiên cứu khả năng kiểm soát sinh học (biocontrol) của XK nội cộng sinh trong suốt hai thập kỷ qua. XK đã được chứng minh khả năng tăng cường, thúc đẩy tăng trưởng của cây chủ, giảm nguy cơ nhiễm mầm bệnh và tăng cường khả năng sống sót của cây chủ trong các điều kiện khác nhau (Strobel và cs., 2004). Những hiểu biết về sinh lý và môi trường tác động phân tử giữa XK và thực vật là những đặc tính quan trọng để khai thác những đặc tính có lợi của VSV nội sinh trong kích thích sinh trưởng thực vật và lĩnh vực khác.

Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã khẳng định vai trò quan trọng của VSV trong sinh tổng hợp chất kích thích sinh trưởng thực vật. Sự đa dạng của VSV nội sinh trong mô thực vật là rất phong phú, hứa hẹn tiềm năng khai thác các hợp chất có hoạt tính sinh học và các hợp chất kích thích sinh trưởng thực vật do các chủng VSV này sinh ra trong nhiều lĩnh vực của đời sống. Các hợp chất có hoạt tính sinh học từ VSV nội sinh được chứng minh là rất đa dạng về mặt số lượng và hoạt tính sinh học như : các chất kiểm soát sinh học, chất kháng VSV, kháng ung thư, chống oxy hóa, chống sốt rét, chất diệt cỏ, chất kích thích sinh trưởng... (Bacon và White, 2000). Vì vậy, nghiên cứu sàng lọc các hợp chất có hoạt tính sinh học nói chung và chất kích thích sinh trưởng thực vật nói riêng từ VSV nội sinh trên thực vật tự nhiên đang là hướng nghiên cứu triển vọng của các nhà khoa học trên thế giới.

b. Ứng dụng trong nông nghiệp

Nhiều VSV nội sinh được công nhận có khả năng sinh kháng sinh, chất kháng ung thư, enzyme, chất kích thích sinh trưởng thực vật, ức chế và kiểm soát bệnh thực vật ... Những tác dụng này tạo nên phổ ứng dụng đa dạng của nhóm VSV này bao gồm:

* Kiểm soát sinh học

Trong những năm gần đây, VSV nội sinh đã thu hút sự chú ý của các nhà VSV bởi khả năng kiểm soát sinh học đối với mầm bệnh do đặc tính cộng sinh và tổng hợp sản phẩm trao đổi chất kháng VSV gây bệnh. Nhiều nghiên cứu chứng minh đặc tính bảo vệ cây chủ của VSV nội sinh chống lại các VSV gây bệnh từ đất như *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae*, *Plectosporium tabacinum*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *F. oxysporum*, *Pythium aphanidermatum* và *Colletotrichum orbiculare* (Cao và cs., 2005; Coombs và cs., 2004).

Cơ chế kiểm soát sinh học tập trung chủ yếu vào các sản phẩm trao đổi chất như chất kháng sinh, enzyme thủy phân, phytohormone... Ngoài ra, các chủng XK giúp tăng cường hệ thống miễn dịch đối với thực vật nhờ kích thích các thụ thể tế bào. Ví dụ như chủng *S. galbus* R-5 không chỉ sinh cellulase, pectinase mà còn sản xuất actinomycin X2 và

fungichromin giúp tăng cường sức đề kháng trong cây đỗ quyên, tăng cường sản sinh jasmonate kích thích hệ thống miễn dịch (Shimizu và cs., 2005).

Conn và cs (2008) công bố kết quả nghiên cứu gây nhiễm *Streptomyces* sp. EN27 và *Micromonospora* sp. EN43 trên hạt giống cây *Arabidopsis thaliana* nhằm làm tăng sức đề kháng chống lại nấm bệnh *Erwinia carotovora* và *F. oxysporum*; kích hoạt biểu hiện gen tổng hợp acid jasmonic, acid salicilic và etylen. Mối liên hệ giữa VSV nội sinh với các cây chủ và các sản phẩm tự nhiên có hoạt tính sinh học được sinh ra bởi VSV nội sinh giúp tìm ra các loại thuốc đặc hiệu có tiềm năng ứng dụng trong bảo vệ và tăng năng suất cây trồng.

* *Kiểm soát bệnh và kích thích sinh trưởng thực vật*

Hiện đã có nhiều công trình nghiên cứu tiềm năng của XK nội cộng sinh kích thích tăng trưởng ở thực vật hoặc tăng cường tương tác giữa thực vật và đất. *Streptomyces* sp. ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng, phát triển của cây như đồng hóa của các chất dinh dưỡng và sản sinh các sản phẩm chuyển hóa thứ cấp. Cơ chế kích thích sinh trưởng thực vật ở XK bao gồm: kiểm soát sinh học; sản xuất chất kích thích tăng trưởng thực vật như auxin, cytokinin và giberelin; sản xuất siderophore để liên kết với Fe^{3+} từ môi trường và cải thiện sự hấp thu chất dinh dưỡng; cung cấp chất dinh dưỡng (nitơ, phosphate và các chất khoáng) hoặc ức chế sản xuất ethylene nhờ 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC). (Combs và cs., 2004).

Gần đây, Meguro và cs., đã tìm thấy một dòng *Streptomyces* sp. MBR-52 mà xuất hiện nhiều và kéo dài rễ cây. Khi cây mô nuôi cấy của đỗ quyên được xử lý bằng MBR-52 trong bình tam giác, dòng này đã xâm chiếm các cây con và sống sót ở đó ngay cả sau khi trồng chúng trong đất. Sự xuất hiện của rễ đã tăng trong cây mô cấy MBR-52 được điều trị, cho thấy chủng này có thể tạo ra một số loại hormone thực vật (s). Dòng này chắc chắn mang lại cho ích lợi thực tế tuyệt vời để rút ngắn thời gian thử nghiệm các cây giống nuôi cấy mô trong môi trường ẩm áp và ẩm ướt, qua đó làm giảm nguy cơ mắc bệnh nhiễm khuẩn của cây con.

Cho đến nay nhiều loài vi nấm được nghiên cứu và sử dụng trong phòng trừ tuyến trùng như *Myrothecium verucaria*, *Peacilomyces lilaccinus*... và phần lớn chúng đều được thương mại hóa thành các chế phẩm ứng dụng trong kiểm soát tuyến trùng ký sinh gây hại cây trồng ở khắp nơi trên giới.

Aravild & cs (2009, 2010), đã phân lập 71 chủng VK nội sinh trong rễ và thân cây hồ tiêu. Tuyến chọn được 3 chủng có khả năng ức chế nấm thối rễ hồ tiêu *Phytophthora capsici*

tới 70% trong thí nghiệm trong nhà lưới và có hoạt tính kháng tuyến trùng. Trivedi (2013) cho thấy rằng nhiều chủng VK nội sinh có khả năng tiết enzyme, kháng sinh ức chế và kiểm soát tốt tuyến trùng gây hại hồ tiêu. Jasim (2013) chứng minh rằng các chủng VK nội sinh phân lập từ hồ tiêu *Klebsiella*, *Enterobacter* có khả năng kích thích sinh trưởng cây hồ tiêu do hoạt tính phân giải phospho khó tan, tổng hợp kích thích sinh trưởng IAA, enzyme ACC deaminase. Jasim (2014) cũng chứng minh rằng một chủng VK nội sinh trong rễ hồ tiêu *Klebsiella pneumoniae* có khả năng tổng hợp IAA kích thích sinh trưởng bộ rễ. Mujal và cs (2015) công bố chủng VK nội sinh phân lập từ rễ hồ tiêu có hoạt tính kháng nấm bệnh *Phytophthora capsici*, *Pythium*, *Rhizotocnia* mạnh do sản sinh một số hợp chất kháng sinh.

Những tương tác có lợi giữa thực vật – VK thúc đẩy sức khỏe, sự phát triển của cây trồng, vấn đề này đang được các nhà nghiên cứu quan tâm. Gần đây, họ đang nghiên cứu tiềm năng cho giải pháp nâng cao khả năng phân hủy sinh học của các chất gây ô nhiễm trong đất. Hầu hết các nghiên cứu này tập trung vào các VK ở rễ (Lindow & Brandl, 2003; Berg et al, 2005). VK nội cộng sinh có thể được định nghĩa là những VK cư trú trong nội mô của thực vật, chúng không có biểu hiện ra bên ngoài và gây tác động xấu đến thực vật mà chúng ký sinh (Holiday, 1989; Schulz & Boyle, 2004), có khoảng 300.000 loài thực vật tồn tại trên trái đất, mỗi loài là một ký chủ cho một đến nhiều các dạng nội ký sinh cư trú. Chỉ có một số loài thực vật được nghiên cứu hoàn chỉnh về các mối quan hệ nội ký sinh của chúng. Do đó cơ hội nghiên cứu và tìm ra các dạng nội ký sinh mới và có lợi trong sự đa dạng sinh học của các hệ sinh thái khác nhau là đáng kể.

VK nội cộng sinh cư trú trong hệ sinh thái thích hợp tương tự như các chồi mầm ở thực vật, điều này làm cho chúng trở thành các tác nhân kiểm soát sinh học (Berg và cs., 2005). Thật vậy, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng VK nội cộng sinh có khả năng kiểm soát được mầm bệnh trên thực vật (Sturz & Matheson, 1996), ở côn trùng (Azevedo và cs., 2000) và cả ở tuyến trùng (Hallmann và cs., 1997). Trong một số trường hợp chúng có thể đẩy mạnh tốc độ nảy mầm của hạt, thúc đẩy sự hình thành cây con trong điều kiện bất lợi và nâng cao khả năng tăng trưởng của thực vật (Bent & Chanway, 1998). VK nội cộng sinh còn có thể ngăn chặn mầm bệnh phát triển bằng cách tổng hợp các chất nội sinh trung gian, qua đó để tiếp tục tổng hợp các chất chuyển hóa và các hợp chất hữu cơ mới. Nghiên cứu cơ chế sản sinh chất chuyển hóa mới trong sự đa dạng sinh học của VK nội cộng sinh có thể phát hiện các loại thuốc mới để điều trị có hiệu quả các bệnh ở người, thực vật và động vật (Strobel và cs., 2004).

1.1.2. Chế phẩm nguồn gốc thảo mộc

Từ lâu ở Ấn Độ và Pakistan đã dùng cây xoan Ấn Độ (*Azadirachta indica*) để trừ sâu hại: trộn lá xoan với hạt ngũ cốc để bảo quản, dùng hạt bón vào đất trừ tuyến trùng, dầu hạt xoan trộn với thuốc BHC quét lên cây cà phê (Ahmed, Koppel, 1986).

Đến nay, nhiều nhà khoa học trên thế giới đã đi tìm kiếm, phát hiện, đánh giá những cây thực vật có tính độc đối với côn trùng và nghiên cứu phương pháp sử dụng chúng trong BVTV. Thống kê ở 19 nước đã có 1800 loài thực vật có tính diệt sâu (Grainger và cs., 1988) như ở Philippine có gần 200 loài thực vật có tính diệt sâu (Morallo-Rejesus, 1987).

Loài thực vật có tính diệt sâu được nghiên cứu nhiều hơn cả là cây xoan Ấn Độ chứa chất Azadirachtin. Đây là chất gây ngán ăn và ức chế sự phát triển của nhiều loài côn trùng. Sâu non sâu khoang (*S. litura*) tuổi cuối trước hóa nhộng cho ăn lá thầu dầu được xử lý chất Azadirachtin đã phát triển thành dạng trung gian giữa sâu non và nhộng. Sâu cắn gié tuổi V-VI, sâu cuốn lá nhỏ tuổi IV-V cho ăn lá đã xử lý bằng dịch chiết từ hạt xoan Ấn Độ bị phá vỡ quá trình biến thái, gây tỷ lệ chết cao ở sâu non, nhộng, trưởng thành. Các chế phẩm từ cây xoan Ấn Độ có triển vọng trừ các loài chích hút trên lúa (*Nephotettix virescens*, *Nilaparvata lugens*, *Sogatella furcifera*, *Leptocorisa oratorius*) và các loài ăn lá (*Cnaphalocrocis medinalis*, *Mythimna separata*, *Spodoptera mauritia*). Các chế phẩm từ cây xoan Ấn Độ tác động lên sâu hại thông qua sự ức chế dinh dưỡng, phát triển và đẻ trứng, không gây ảnh hưởng tới các thiên địch. Phun các chế phẩm từ cây xoan Ấn Độ 3 lần (ngày 20, 40, 60 sau khi cấy) cho hiệu quả phòng trừ sâu hại và tăng năng suất lúa cao hơn so với phun 1-2 lần (Saxena, 1987). Các chế phẩm từ cây xoan Ấn Độ có hiệu quả cao trừ sâu xanh *H.armigera* và làm tăng năng suất đậu Hà Lan. Còn dùng trừ sâu mọt kho rất tốt.

Ở Philippines đã tiến hành khảo nghiệm hiệu lực diệt sâu của 34 loài thực vật (*Tinospoea rumphii*, *Vitex negundo*, *Blumea balsamiera*, *Coleus amboinicus*,...). Nhung rễ mạ vào dung dịch chiết suất nước của cây *Tinospoea rumphii* có hiệu lực trừ nhiều loài sâu chính hại lúa, dùng dịch chiết từ cây này phun 2 lần thay cho 4 lần dùng thuốc hóa học như đã khuyến cáo (Morallo-Rejesus, 1987). Ấn Độ đã thử hiệu lực chống sâu hại của *Vitex negundo* đối với sâu cuốn lá nhỏ, đục thân 2 chấm, *Ch. polychrysa*, sâu khoang. Dịch chiết bằng ester 500 ppm gây dị dạng ở cuốn lá nhỏ, gây chết hơn 60% sâu 2 chấm và 5 vạch sau 24 giờ xử lý. Sâu mọt kho cũng là đối tượng được nghiên cứu để diệt trừ bằng thảo mộc. Tại Philippine dùng cây *A.indica*, *curcuma longa*, *Acorus calamus* để phòng chống sâu mọt kho vừa hiệu quả vừa kinh tế (Jilani, Saxena, 1987). Ở Thái Lan có nhiều loại cây được sử dụng trừ sâu hại: cây *Capsicum*

frutescans trừ một đục hạt ngô *Sitophilus zeamais*, *Spodoptera litura*; cây *Annona squamosa* dùng trừ *N. virescens*; hạt củ đậu *Pachyrhizus erosus* trừ muỗi *Aedes aegypti* (Bullangpoti và cs., 2008; Srikhong và cs., 2005). Hiệu lực của chất mangostin trong dịch chiết từ quả cây *Garcinia mangostana* được đánh giá với rầy nâu. Kết quả cho thấy dịch chiết quả bằng ethanol cho hiệu quả cao đối với rầy nâu và có thể sử dụng là chất lựa chọn trừ rầy nâu, góp phần giảm sử dụng thuốc hóa học trừ sâu tổng hợp. Tuy nhiên cần phải thí nghiệm đánh giá hiệu quả ngoài đồng đối với rầy nâu và ảnh hưởng phụ với sinh vật không chủ đích trước khi thương mại hóa chế phẩm (Bullangpoti và cs., 20012). Đã đánh giá tính độc của 2 alkaloid chiết xuất từ cây *Piper longum* đối với 5 loài sâu hại. Cả 2 alkaloid này đều có triển vọng trừ sâu khoang, nhưng không biểu hiện tính độc đối với sâu tơ và rầy nâu (Park và cs., 2002).

1.1.3. Phân bón nhả chậm

Cơ chế nhả dinh dưỡng của phân bón nhả chậm là một quá trình phức tạp và rất khó để đưa ra một cơ chế rõ ràng do nó phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: loại phân bón nhả chậm, tính chất của vật liệu phủ, các điều kiện nông học và nhiều yếu tố khác. Trên thực tế, hầu hết các nỗ lực nhằm đưa ra cơ chế của quá trình nhả chất dinh dưỡng từ phân bón nhả chậm đều dựa trên việc thừa nhận rằng sự nhả dinh dưỡng được kiểm soát bởi tốc độ thấm nước và hơi vào phần lõi viên phân thông qua lớp vỏ. Một trong số các cơ chế được đề cập nhiều trong các tài liệu nghiên cứu là mô hình khuếch tán chất dinh dưỡng của Liu và Shaviv, áp dụng cho các loại phân bọc nhả chậm.

Quá trình nhả chất dinh dưỡng của phân bón nhả chậm gồm 3 giai đoạn chính:

+ Giai đoạn 1: Vật liệu phủ trương lên do hấp thụ nước từ đất và chuyển thành dạng hydrogels, làm tăng kích thước các lỗ trống của màng phủ, hình thành một lớp nước giữa lớp phủ trương và phần lõi, tạo điều kiện cho quá trình khuếch tán chất dinh dưỡng từ phần lõi.

+ Giai đoạn 2: Nước khuếch tán chậm vào phần lõi viên phân và hòa tan một phần chất dinh dưỡng. Phần dinh dưỡng hòa tan này nhả chậm vào đất thông qua quá trình trao đổi nước giữa lớp màng hydrogel và đất.

+ Giai đoạn 3: Các VSV trong đất sẽ bám lên lớp vỏ trương và phân hủy phần còn lại của viên phân. Cơ chế khuếch tán này giải thích một cách hiệu quả bản chất quá trình nhả chất dinh dưỡng từ phân bọc nhả chậm. Để dự đoán quá trình nhả chậm bằng các thông số hóa lý, các số liệu định lượng...các nhà nghiên cứu đã đề xuất nhiều mô hình toán học dựa trên các cách tiếp cận thực nghiệm và bán thực nghiệm. Bằng cách nghiên cứu ảnh hưởng của bản chất màng phủ, độ dày màng phủ, nhiệt độ...có thể chế tạo được loại phân bón nhả chậm có tốc độ

nhà dinh dưỡng phù hợp với chu kỳ sinh trưởng và phát triển của các loại cây trồng. Tuy nhiên, hầu hết các cơ chế liên quan đến quá trình nhà đều phụ thuộc chính vào cơ chế khuếch tán, với việc chấp nhận bỏ qua yếu tố nhiệt độ, chiều dày lớp phủ, loại chất dinh dưỡng, sự có mặt hoặc không của các VK trong đất.

Ưu điểm của phân bón nhà chậm: (1) Giảm tối thiểu sự mất mát phân bón do xói mòn đất, sự bay hơi hay do kết dính chặt vào đất và nâng cao hiệu quả sử dụng phân bón (Nguyễn Cửu Khoa và cs, 2009). Việc sử dụng phân bón nhà chậm có thể giảm từ 20-30% (hoặc lớn hơn) lượng phân bón so với phân bón thông thường mà vẫn cho năng suất như nhau. Các chất dinh dưỡng được cung cấp suốt vòng đời phát triển của cây, theo từng giai đoạn phát triển của cây, nhu cầu dinh dưỡng ở từng thời điểm được cung cấp đúng lúc, đúng liều và đúng cách. Đồng thời giúp rễ cây phát triển tốt và sâu, góp phần tăng sức đề kháng của cây. (2) Phân bón nhà chậm giúp cải thiện sự hấp thu các chất dinh dưỡng của thực vật thông qua việc nhà chất dinh dưỡng đầy đủ theo thời gian, làm giảm đáng kể lượng hao hụt chất dinh dưỡng, đặc biệt là mất nitơ, nitrat qua việc rửa trôi NO_3^- và bay hơi của NH_3 ; làm giảm thiểu các loại khí gây hiệu ứng nhà kính như N_2O và nguy cơ ô nhiễm mạch nước ngầm, không khí. - Phân bón nhà chậm làm giảm độc tính đối với cây trồng (đặc biệt là cây trồng từ hạt). Không gây chết cây do sốc dinh dưỡng khi mới bón, không gây thoái hoá và làm chết các VSV đất, giảm thiểu rủi ro mà phân bón gây ra đối với cây trồng và môi trường như cháy lá, ô nhiễm nguồn nước và hiện tượng phú dưỡng. Ngoài ra phân bón nhà chậm còn cải thiện chất lượng đất, tăng tỉ lệ nảy mầm của cây. (3) Giảm số lần bón phân trong một vụ, chỉ cần bón 1 lần duy nhất cho cả vụ nên tiết kiệm thời gian, công lao động và kinh tế cũng như chi phí trong sản xuất. (4) Việc sử dụng phân bón nhà chậm đóng góp vào chương trình quản lý phân bón tiên tiến và sáng tạo, hệ thống canh tác công nghệ cao. Trong sản xuất rau chuyên canh, phân bón nhà chậm được sử dụng một lần cho nhiều loại cây trồng, ví dụ rau diếp, cải thảo, đậu tằm, bông cải xanh...giúp nâng cao chất lượng, an toàn của rau quả và nông sản (Lê Quốc Phong, 2011). . (5) Giảm độ pH trong đất có môi trường kiềm. Sử dụng phân bón ure bọc lưu huỳnh làm tăng độ axit vì cả lưu huỳnh và ure đều góp phần làm đất chua (pH đất có tính kiềm bị giảm) (Nguyễn Cửu Khoa, 2009). Tuy nhiên, quá trình axit hóa có thể có lợi cho sự hấp thu photpho và sắt (Fe). Ngoài ra, lưu huỳnh là chất dinh dưỡng cần thiết cho tất cả các loại cây trồng.

Nhiều công trình liên quan đến phân bón nhà chậm đã được công bố: Mangrich và cs., (2001) đã công bố công thức chế tạo phân kali nhà trên cơ sở silicate kalite với dầu cá

mật Brazilian oil shale. Sản phẩm chứa hàm lượng K_2O 30.3% (trong HCL 0.5M) và 23.2% (trong citric 0.1M) và 6.9% (trong H_2O). Markusch và cs., (2001) đăng ký bản quyền về phân urê nhả chậm trên cơ sở bao bọc urê bằng polyurethane. Patent PL18154781 về quy trình sản xuất phân N, P, K nhả chậm trên cơ sở bao bọc bằng tinh bột (khoảng 10%). Patent US2002011087 về phương pháp sản xuất nitơ nhả chậm trên cơ sở ureformaldehyde. Wertz, Stacey và các cộng sự (2002) cũng đã công bố qui trình sản xuất phân nhả chậm từ các hạt urê-formaldehyde với $CaCO_3$; gypsum, talc, activated carbon... Wertz, Stacey và các cộng sự (2003) đã công bố qui trình sản xuất phân nhả chậm với sự kết hợp giữa UF với PAA và PMA. Lan Wu và các cộng sự (2007) điều chế phân N, P, K nhả chậm dựa trên công nghệ bọc phân trong 2 lớp màng Chitosan và Polyacrylic acid. Phân tích nguyên tố thành phần của loại phân nhả chậm này chứa 8.47% K, 8.51% P và 15.77%. Jagadeeswaran và các cộng sự (2007) đã sử dụng phân NPK được phủ thạch cao cho cây nghệ được trồng ở Coimbatore Ấn độ. Năng suất nghệ tăng 125%. Derrick và Donald (2008) đã nghiên cứu sử dụng phân N và K nhả chậm từ nhựa polyolefin lên cây bông vải, kết quả cho thấy khi giảm lượng phân sử dụng đến 40% so với hàm lượng bón thông thường nhưng không làm thay đổi năng suất của vụ bông. Tang và các cộng sự (2008) đã nghiên cứu đánh giá hiệu quả của phân NPK được bọc bởi polymer lên cây hồ tiêu. Kết quả cho thấy khi sử dụng loại phân này năng suất hạt tiêu tăng 8.5% so với bón phân thông thường. Zhao và cs., (2010) đã công bố trên tạp chí Journal of Polymer Research một loại phân NPK nhả chậm dựa trên tổng hợp 1 loại polymer hữu cơ chứa hàm lượng cao của các nguyên tố N, P và K. Kết quả thử nghiệm cho thấy 75% lượng phân NPK được nhả ra sau 30 ngày. Patent Ger. Offen. DE 10200110A17 của Kaempf, Rudolf công bố phân nhả chậm được hình thành bởi phản ứng giữa urê và cellulose. Điều này cho thấy có thể sử dụng các phế liệu nông nghiệp trong điều chế phân nhả chậm.

1.2. ỨNG DỤNG CÁC CHẾ PHẨM SINH HOÁ HỌC TRONG PHÁT TRIỂN NÔNG NGHIỆP BỀN VỮNG TẠI VIỆT NAM

1.2.1. Phân bón sinh học

Phân bón hữu cơ vi sinh đa chức năng là phân bón hữu cơ sinh học có bổ sung tập hợp các VSV đa hoạt tính có khả năng cố định nitơ, chuyển hóa lân khó tan, sinh tổng hợp kích thích sinh trưởng cây trồng và đối kháng với các VSV gây bệnh, nhất là VSV gây bệnh vùng rễ cây trồng cạn. Cho nên phân hữu cơ vi sinh đa chức năng có khả năng cung cấp một số dưỡng chất cho cây trồng (N, P, K, các chất vi lượng), đồng thời giúp cây trồng tăng

cường trao đổi chất, qua đó tiết kiệm được phân khoáng vô cơ; tác dụng tích cực đến sự bền vững của đất trồng, cải thiện tính chất lý, hóa của đất đồng thời có khả năng hạn chế một số bệnh vùng rễ cây trồng do nấm và VK gây ra.

Việc bổ sung các loại VSV có khả năng phân giải cellulose cao (*Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*...), cố định nitơ tự do (*Azotobacter*), phân giải lân (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*) với mật độ 10^6 - 10^8 CFU/g cùng các nguyên tố dinh dưỡng như N dạng hữu cơ, P dạng quặng photphorit đã làm tăng chất lượng của phân bón lên đáng kể. Các sản phẩm phân bón sinh học sản xuất chế biến từ phế phụ phẩm nông nghiệp, từ than bùn, từ đất hiếm... đều đã được nghiên cứu, xây dựng quy trình sản xuất phục vụ sản xuất nông lâm nghiệp. Các sản phẩm phân bón như: Azogin, Rhizolec, Vitaragin, Phosphobactein... đều có hiệu quả tốt cho cây trồng.

Hiện nay đã có nhiều cơ quan, đơn vị đã nghiên cứu sản xuất được nhiều loại phân bón như: Trung tâm Công nghệ Hóa Dược và Hóa sinh hữu cơ - Viện Khoa học Vật liệu; Trường Đại học Bách khoa thành phố Hồ Chí Minh; Công ty Phytohoocmon; phòng Hóa Bảo vệ thực vật - Viện Hóa học; Liên hiệp Khoa học Sản xuất công nghệ Hóa học - Viện Hóa học chất tự nhiên; Viện Công nghệ sinh học; Viện Thổ nhưỡng Nông hóa.

1.2.1.1. Chế phẩm vi sinh chức năng cố định đạm

Lai Chí Quốc và đồng tác giả (2012) đã tuyển chọn và nhận diện VK cố định đạm (có khả năng hòa tan phốt phát và kali) được phân lập từ vật liệu phong hóa của vùng núi đá hoa cương tại núi cấm, tỉnh An Giang, 28 dòng VK được phân lập trên môi trường Aleksandrov từ hai mươi mẫu vật liệu phong hóa của đá hoa cương đều có khả năng tổng hợp NH_4 cao. Hỗn hợp VSV của một số dòng như, *Rhizobium tropici*, *Bacillus subtilis*, *Rhizobium multihospitium* đã giúp cho các loài như Hành lá và Mồng tơi có khả năng cố định đạm giúp cây phát triển chiều cao, tăng khối lượng và năng suất.

Trần Thanh Phong và Cao Ngọc Diệp (2012), đã phân lập và mô hình tả đặc điểm hình thái của 31 chủng VK cố định đạm nội sinh trong rễ cây ngô trên môi trường không có đạm Nfb. Cả 31 chủng phân lập được đều có khả năng sinh tổng hợp IAA. Tuyển chọn được 9 chủng có phản ứng tốt với sự sinh trưởng, tích lũy chlorophyll, N, P và dương tính với gen nifH (C6, C10, C13, C14, C18, C23, C29, C30, C31). Trong số đó đã giải trình tự gen 16S được 3 chủng C14, C23, C31 là những chủng cho hoạt tính cố định đạm, khả năng sản xuất IAA cao và dương tính với gen nifH đó là các chủng *Pseudomonas nitroreducens* C14, *Burkholderia cenocepacia* C23, *Pseudomonas entomophila* C31. Khi nhiễm các

chúng này vào hệ rễ cây làm tăng số lá 23- 33%; chiều dài lá 18,8 – 38,5%, chiều cao cây 29,5 – 44,2%; đường kính gốc thân 24,3 – 31,5; chiều dài rễ 24,2 – 25,9%; khối lượng rễ 21,9 – 27%; sinh khối tươi 41,8 – 53,5%; sinh khối khô 48,8 – 58,8%; tích lũy diệp lục tổng số tăng 69,4 – 84,9%; tích lũy N trong lá tăng 35,4 – 54,2%, tích lũy P tăng 30,5 – 36,1% so với đối chứng.

Đinh Thúy Hằng và Trần Triết (2009) đã nghiên cứu quá trình cố định nitơ trong rừng ngập mặn Cần Giờ có sự tham gia của các VSV. Các tác giả cho rằng trầm tích trong rừng ngập mặn thường bị hạn chế về nitơ và phốt pho. Nitơ ở dạng khí hòa tan là nguồn dự trữ lớn tại vùng sinh thái này, do vậy các VSV cố định nitơ có vai trò vô cùng quan trọng ở đây. Tại rừng ngập mặn Cần Giờ đã xác định được hàm lượng nitơ tổng số cao nhất ở 2-3cm bề mặt trầm tích và giảm dần theo độ sâu, thể hiện sự đóng góp của nitơ rửa trôi từ đất liền đối với trầm tích bề mặt và vai trò của VSV cố định nitơ bản địa trong việc duy trì nguồn nitơ ở lớp trầm tích dưới bề mặt. Thông qua phương pháp khử acetylene, nitrogenase được xác định hầu như không có hoạt tính ở trầm tích bề mặt mà tập trung chủ yếu ở độ sâu dưới 5cm, là nơi có môi trường thiếu oxy. Phân tích gen xác định mức độ đa dạng cao của VSV cố định nitơ ở cả lớp trầm tích bề mặt và lớp trầm tích sâu dưới 5cm, trong đó các nhóm VK kỵ khí như *Desulfovibrio* hay *Geobacter* chiếm ưu thế. Điều này cho thấy sự khác biệt rõ rệt của quần thể VSV cố định nitơ ở rừng ngập mặn so với các vùng rễ lúa hay các cây họ đậu, nơi có các loài hiếu khí (*Rhizobium*, *Agrobacter*...) chiếm ưu thế.

1.2.1.2. Chế phẩm vi sinh chức năng phân giải lân

Phạm Văn Toàn và cs., đã phân lập được 100 chủng có hoạt tính phân giải lân.

Phạm Việt Cường (2004) đã phân lập được 80 chủng VK phân giải lân trong đó có 24 chủng có khả năng phân giải lân mạnh (Dpg > 10mm chiếm 30%), 34 chủng có khả năng phân giải lân trung bình (Dpg từ 6 -10 mm chiếm 42,5%) và 22 chủng có khả năng phân giải lân yếu (đường kính vòng phân giải dưới 5,5mm chiếm 27,5%). Tác giả đã nghiên cứu sản xuất phân bón VSV đa chủng (có VSV phân giải lân) kết quả cho thấy đạm hữu cơ, P₂O₅ dễ tan và K₂O dễ tan đều tăng lên sau 2 năm thí nghiệm. Cây cà phê có tốc độ tăng trưởng chiều dài cành, đường kính cành nhanh hơn, cặp lá hình thành nhiều hơn, hạn chế quả rụng, quả một nhân và tỷ lệ tươi/nhân thấp.

Nguyễn Thị Thúy Nga và Phạm Quang Thu (2009) với 30 mẫu đất rừng thu được ở các tỉnh miền Bắc Việt Nam đã phân lập được 30 chủng VSV có khả năng phân giải lân. Trong đó có 15 chủng có hiệu lực phân giải lân rất cao, chiếm 50% tổng số chủng phân lập

được. Các chủng PGL_{RH3}, P9.2, P1.4, P1.1, có đường kính vòng phân giải lân cao (>22cm). Kết quả phân tích định lượng cũng cho thấy chủng PGL_{RH3} có khả năng phân giải photpho dễ tiêu lớn nhất tới 497.62ppmP, gấp khoảng 12 lần so với đối chứng. Sau đó là các chủng P1.4, P1.1, P7.1 phân giải được lượng photpho > 420ppmP. Định danh được 3 chủng P1.1, P1.4, và PGL_{RH3} trong đó có 2 chủng trùng nhau, đó là chủng P1.1, P1.4 là loài *Burkholderia cenocepacia*, PGL_{RH3} là loài *Burkholderia tropicalis*.

1.2.1.3. Các VSV nội sinh

Ở Việt Nam chưa có nhiều nghiên cứu về VSV nội sinh nói chung và XK nói riêng. Từ 54 mẫu cây lúa (*Oryza sativa* L.) trồng ở 7 huyện và thành phố Tuy Hòa, Phú Yên, nhóm nghiên cứu của TS. Cao Ngọc Diệp đã phân lập 191 chủng VK nội sinh, trong đó 27 chủng thuộc các chi *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Bacillus* có khả năng cố định đạm, hòa tan lân và tổng hợp indol-3-acetic acid (IAA) tốt (Văn Thị Phương Như, Cao Ngọc Diệp, 2013). Năm 2013, Hoàng Hoa Long và cs., đã phân lập chủng VK *Bacillus* sp. B55 trên cây thuốc lá (*Nicotiana attenuata*) làm tăng khả năng sống sót và kích thích sinh trưởng của cây chủ trong điều kiện tự nhiên có thể thông qua một số cơ chế như tổng hợp IAA, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase (ACCd) và hòa tan phosphat vô cơ. Ngoài ra, đặc tính kích thích sinh trưởng cây chủ của chủng VK này có quan hệ mật thiết đối với mật độ chúng bên trong mô cây chủ (Hoàng Hoa Long và cs., 2013).

Năm 1997, Lê Thị Xuân, Lê Mai Hương đã thăm dò khả năng tạo chất taxol từ cây thông đỏ (*Taxus*) ở Việt Nam và tách chiết được một chất gần giống với 10-deacetyl baceatin III (10-DAB), chất có thể chuyển hóa thành taxol. Đến năm 2010 Nghiên cứu của PGS. TS Lê Mai Hương viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên đã phân lập 55 chủng nấm nội sinh từ các bộ phận của 2 loài khổ sâm (*Croton tonkinensis* Gagnep.) và cây bum búp (*Mallotus apelta* Lour.). Trong đó có 10 chủng có hoạt tính kháng VSV cao nhất. Đã xác định được cấu trúc hóa học của 5 hợp chất từ cặn chiết etylaxetat của chủng nấm nội sinh *Trichoderma konilangbra* KS14. Đặc biệt, hợp chất KS14-3 (1,3-dihydroxy-3,5-dimethylphenyl-2,4-hexadien-1-one (sorbixilin)) có hoạt tính gây độc dòng tế bào ung thư gan (Hep-G2) và ung thư cơ vân (RD) với giá trị IC₅₀ lần lượt 5 và 4,91 µg/ml. Còn hợp chất KS14-5 (5,8-Epidioxy-5 α ,8 α -ergosta-6,22E-dien-3 β -ol (ergosterol peroxit)) có hoạt tính gây độc các dòng tế bào Hep-G2, RD và dòng tế bào ung thư màng tử cung (FI) với giá trị IC₅₀ lần lượt là 6,25; 6,8 và 7,5 µg/ml.

Dương Minh Lam và cs., (2014) đã phân lập 52 chủng XK nội sinh trên cây bản

chua (*Sonneratia caseolaris*), cây bần (*Sonneratia paracaseolaris*) và cây cóc trắng (*Lumnitzera racemosa*) tại tỉnh Nam Định, Việt Nam. Ba mươi tám chủng ức chế với *Aspergillus niger* và 40 chủng ức chế *Candida albicans* (Duong Minh Lam *et al.*, 2014).

1.2.2. Chế phẩm sinh học trừ sinh vật hại

Nhiều nghiên cứu ứng dụng các chế phẩm sinh học trên cây cà phê, hồ tiêu đã cho nhiều kết quả phòng trừ dịch hại tốt.

- Nấm đối kháng *Trichoderma* sp đơn độc hoặc ủ với phân hữu cơ trong phòng chống bệnh chết nhanh và bệnh chết chậm cây hồ tiêu và nhiều cây trồng cạn khác hiệu quả đạt 60 - 72% (Cục Bảo vệ thực vật, 2003. Báo cáo kết quả mô hình quản lý tổng hợp bệnh hại hồ tiêu tại Quảng Trị và Bình Phước).

- Các chế phẩm sinh học diệt côn trùng được nghiên cứu, sản xuất từ các nấm *Metarhizium anisopliae*, *Beuveria bassiana*, *Streptomyces* sp,... là các chế phẩm của các đề tài nghiên cứu từ Viện BVTV, Viện Mối và Côn trùng có hại, Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long,... đã được thử nghiệm phòng chống nhiều loài sâu hại thuộc các bộ cánh cứng (Coleoptera), bộ cánh đều (Homoptera), bộ cánh vảy (Lepidoptera)...

- Sử dụng vi nấm *M. anisopliae* (Ma) có hiệu lực cao đối với rệp sáp giả *Dysmicoccus* sp hại cây na, phun ở nồng độ 9×10^8 bào tử/ml kiểm soát được 82,2% rệp sáp giả sau 5 ngày xử lý. Cả 4 nồng độ 1×10^8 , 5×10^8 , 7×10^8 và 9×10^8 /ml đều có khả năng diệt rệp 100% sau 21 ngày xử lý. Tuy nhiên hiệu quả trừ rệp sáp giả của Ma trên cây na ở điều kiện đồng ruộng ngoại ô thành phố Hồ Chí Minh thấp hơn so với ở phòng thí nghiệm, nhưng cũng đạt 56-78% (Võ Thị Thu Oanh và cs., 2008).

- Nguyễn Xuân Thanh, Phạm Thị Thùy (2005), đã nghiên cứu sử dụng nấm *Metarhizium anisopliae* dưới dạng dịch bào tử ở nồng độ 10^8 bào tử/ml để phòng trừ rệp sáp hại rễ cà phê, hiệu quả đối với thí nghiệm trong phòng đạt 70-100% sau 7 ngày, thí nghiệm ngoài đồng ruộng đạt 75% sau 7 ngày và 100% sau 14 ngày, phun lên hỗn hợp phân hữu cơ xấp bón quanh gốc và giữ ẩm đạt hiệu quả 90% sau 45 ngày và 70% sau 12 tháng.

- Phan Xuân Thanh và cs, 2005, đã nghiên cứu sử dụng chế phẩm thảo mộc Sông Lam 333 và Sông Lam A dùng đơn lẻ (0,3%) hoặc hỗn hợp với thuốc hóa học trừ sâu (Padan, Monster) đều cho hiệu lực trừ rầy xanh hại chè ở mức trung bình khá trở lên và thuốc BVTV hóa học phối trộn giảm được một nửa liều lượng. Chế phẩm thảo mộc Sông Lam 333 ở nồng độ 0,15-0,3% đều có hiệu lực thấp đối với bộ cánh tơ, nhện đỏ hại chè, nhưng khi hỗn hợp với thuốc trừ sâu (Padan, Monster) hiệu lực từ trung bình khá trở lên.

- Chế phẩm nấm *Beauveria bassiana* có hiệu lực cao trong trừ bọ hà hại khoai lang (thí nghiệm trong phòng) ở nồng độ 2g chế phẩm/100ml nước. (Nguyễn Thị Kim Oanh, 2002).

- Chủng VK *Bacillus thuringiensis* tổng hợp tinh thể hình quả trám là có gen CryI có hoạt chất diệt côn trùng bộ cánh vảy và sâu cao tương đương với chủng *B. Azawai* (đã được thương mại). Chế phẩm *Bt* do Viện Công nghệ sau thu hoạch sản xuất ở quy mô pilot lượng 80 lit/mẻ đã cho hoạt tính diệt sâu cao đối với côn trùng bộ cánh vảy hại rau quả, nông sản bảo quản và rẻ hơn, an toàn hơn dùng thuốc trừ sâu hóa học (Nguyễn Thùy Châu et al, 2000; Bùi Thị Hương et al, 2000). Chế phẩm *Bt* này có hiệu quả trừ sâu róm hại thông (*Dendrolimus punctatus*) (Đào Xuân Trường, 1992); Thuốc trừ sâu vi sinh Firibiotox – P sản xuất từ chủng VK *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* tại Viện CNTP có hiệu lực trừ sâu cuốn lá lúa loại nhỏ từ 74,1 – 84,8% (Nguyễn Thị Hoài Trâm et al, 2005).

- Các chế phẩm sinh học diệt côn trùng, nấm bệnh được nghiên cứu, sản xuất từ VK *Bacillus thuringiensis* như *Bt*, *Vi-Bt*, *Biobac*,... đã được sử dụng trong phòng chống nhiều loài sâu, bệnh hại cây trồng có hiệu quả.

- Các chế phẩm sinh học diệt côn trùng được nghiên cứu, sản xuất từ 2 giống tuyến trùng *Steinernema* và *Heterorhabditis* đã đưa vào sản xuất thử nghiệm. Tuy nhiên, giá thành còn cao, khả năng bảo quản còn khó khăn nên chưa đưa vào sử dụng trên diện rộng.

- Các chế phẩm sinh học diệt côn trùng được nghiên cứu, sản xuất từ vi rút cũng đã được Viện BVTV và một số cơ quan khoa học khác đã đưa ra một số chế phẩm NPV... phục vụ công tác phòng chống dịch hại cây trồng.

- Các chế phẩm sinh học phòng chống dịch hại sản xuất từ thảo mộc và các hợp chất tự nhiên như các chế phẩm ANISAF SH01 , Delfil, CCR, TN3, TN4....:

Sản phẩm ANISAF SH01 được nghiên cứu và đăng ký lưu hành trong danh mục thuốc BVTV (năm 2005) bởi viện ITC. Thuốc ANISAF SH01 có tác dụng phòng trừ sâu bệnh phổ rộng, hiệu lực cao; đã được nghiên cứu sử dụng nhiều trên cây chè, thuốc lá, rau. Kết quả thí nghiệm tại vùng chè Phú Lương (Thái Nguyên) trong năm 2005 cho thấy ANISAF SH01 có hiệu quả hạn chế tác hại của bọ xít muỗi hại chè. Hiệu lực của chế phẩm đạt thấp nhất cũng tương tự như hiệu lực của thuốc Pandan 95SP; trường hợp đạt cao nhất có thể đạt trung bình tới 88,1 - 90,4%. Thuốc phun vào thời điểm vết chích của bọ xít muỗi còn nhỏ li ti sẽ cho hiệu quả cao hơn so với khi phun vết chích đã rõ ràng. Còn kết quả nghiên cứu năm 2008 tại Công ty chè Mỹ Lâm (Tuyên Quang) cho thấy: thuốc Anisaf SH

– 01 có hiệu lực diệt rầy xanh đạt 71,5 – 85,8 %; hiệu lực diệt bọ cánh tơ đạt 60 -80 %; hiệu lực của thuốc đối với nhện đỏ đạt từ 50 – 66,7 %; hiệu lực của thuốc đối với bọ xít muỗi đạt từ 60 - 62 %. Ngoài ra các nghiên cứu khác cũng cho biết: thuốc có thể sử dụng trong phòng trừ sâu bệnh cho nhiều loại cây trồng khác nhau với các phương pháp sử dụng hợp lý phù hợp cho từng loại cây (*đã được nghiên cứu thăm dò trên cây Vải, Cà phê, Hồ tiêu, Thanh long, Nho, Bưởi, Cam*). Qua các nghiên cứu của Viện ITC cho thấy thuốc có hiệu lực phòng trừ sâu ăn miệng (như sâu xanh, sâu xám, sâu róm...) và các loại bọ chích hút (bọ xít, rầy xanh, rầy nâu, rệp sáp, bọ cánh tơ ...).

Qua thực tế sử dụng trên cây Chè tại Tân Cương, Thái Nguyên và cây Vải tại 2 huyện Tân Yên và Lục Ngạn, Bắc Giang, Viện ITC đã phối hợp cùng Cục BVTV, viện BVTV và các chi cục BVTV địa phương khẳng định hiệu lực tốt của thuốc trong phòng trừ sâu bệnh tổng hợp cho Chè và Vải thiều sạch sản xuất theo hướng hữu cơ bền vững. Đã xây dựng thành công mô hình canh tác chè sạch và vải thiều sạch ứng dụng duy nhất sản phẩm thuốc BVTV sinh học ANISAF SH01 trong phòng trừ dịch hại (Sâu hại và bệnh) cho Chè tại Tân Cương, Thái Nguyên và Vải thiều tại Bắc Giang.

Thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 có tác dụng ức chế men NADH₂ dehydrogenase trong chuỗi hô hấp của côn trùng, độc tính này chỉ thể hiện đối với côn trùng, không gây độc cho người và động vật có vú. Thuốc ANISAF SH01 có tác dụng tăng cường miễn dịch cũng như khả năng kháng sâu bệnh tự nhiên của cây trồng theo nguyên tắc “Đối kháng sinh tồn“. Ngoài tác dụng tiêu diệt, thuốc còn có tác dụng xua đuổi côn trùng và ức chế chu kỳ phát dục của côn trùng. Vì vậy thuốc cũng có tác dụng hạn chế sự di chuyển đến phá hoại cây trồng của các loại bọ có cánh và góp phần giảm sự bùng phát của các loại sâu vào thời kỳ sâu nở.

Thuốc ANISAF SH01 phát huy tác dụng theo cả 2 đường tiếp xúc và đường nội hấp. Phương pháp sử dụng theo cả đường tưới và đường phun để cho các đặc tính về hiệu lực khác nhau. Thuốc được bào chế từ các hợp chất thiên nhiên, thân thiện với sinh lý phát triển của cây trồng (không gây đối kháng sinh lý).

1.2.3. Phân bón nhả chậm

Năm 2002 báo điện tử VNEXPRESS công bố phân urê-zeolite do 2 nhà khoa học Trần Khắc Chung và Mai Hữu Khiêm (ĐH Bách Khoa TpHCM) điều chế. Phân nhả chậm urê-zeolite đã được thử nghiệm 2 vụ lúa tại trại thực nghiệm lúa Long Phú (Sóc Trăng) đã cho kết quả tốt, tiết kiệm được 30% lượng phân bón và thời gian tác dụng kéo dài 50 ngày.

Đối với cây dưa hấu, đậu phộng tại Củ Chi (TpHCM) cho thấy qua 2 đợt thử nghiệm phân urê-vi lượng zeolite đã tăng năng xuất hạt lên 9%. Tuy nhiên công bố không cho biết giá thành và hiệu quả kinh tế.

Tác giả Phạm Hữu Lý và Đỗ Bích Thanh (2005) cũng đã công bố về phân nhả chậm từ urê và gelatin. Các tác giả đã tổng hợp được một số loại phân urê nhả chậm với polymer nền là gelatin. Polymer nền này có nguồn gốc động vật và không gây ô nhiễm môi trường. Nguyễn Thanh Tùng và cs., (2005) đã công bố ảnh hưởng của polymer siêu hấp thụ nước (polyacrylic acid) tới khả năng lưu giữ phân bón trong môi trường đất. Kết quả cho thấy PAA cũng có khả năng lưu giữ một số nguyên tố đa lượng N, K và nguyên tố vi lượng Cu, Zn, Mn. Tuy nhiên các nghiên cứu ứng dụng thực tế chưa được triển khai (Nguyễn Thanh Tùng, 2005).

Từ năm 2005, phòng Công nghệ hữu cơ polymer – Viện CN Hóa học (Phòng Vật liệu Hóa dược-Viện KHV L Ứng dụng) thông qua đề tài nghiên cứu cấp cơ sở của Viện đã nghiên cứu điều chế thành công phân nhả chậm ở quy mô nhỏ phòng thí nghiệm nhằm kéo dài thời gian nhả chậm của phân urê đặc biệt trong môi trường nước. Vật liệu urê nhả chậm này được điều chế dựa trên phản ứng tạo urê-formaldehyt từ urê và formalin. Loại phân này khi bón vào đất sẽ phân giải chậm cấu trúc của vật liệu và sinh ra urê trong suốt quá trình phân giải trên. Năm 2008 viện đã bắt đầu thử nghiệm bón phân urê nhả chậm cho lúa tại Vĩnh Long. Kết quả giảm 30% lượng phân so với đối chứng sử dụng urê thông thường. Hơn nữa, màu lúa, số cây trong một bụi lúa, chiều cao cây lúa, số lá trên cây, sâu bệnh tương đương và năng suất lúa dùng phân nhả chậm cao hơn từ 6,37 - 9,66% so với đối chứng bón phân urê thông thường. Năm 2010, viện tiếp tục hoàn thiện công nghệ chế tạo loại phân urê nhả chậm và mở rộng thí nghiệm bón phân nhả chậm trên nhiều loại cây (lúa, cam, thanh long) ở nhiều vùng đất khác nhau theo đề tài của Sở KH&CN TpHCM. Trên cơ sở các kết quả thu được khá khả quan của dòng phân urê nhả chậm, từ năm 2012 viện tiếp tục nghiên cứu tổng hợp và sản xuất pilot một số công thức phân NPK nhả chậm để thử nghiệm cho nhiều loại cây, trong đó có 6 loại cây trồng chủ lực của các tỉnh Tây nguyên. Loại phân NPK nhả chậm trên được tổng hợp dựa trên nguyên tắc màng bao. Đã có nhiều nghiên cứu sử dụng các loại màng polymer bao bọc phân để hạn chế tốc độ nhả của phân, từ đó giảm sự ô nhiễm môi trường do thất thoát phân bón được công bố. Các polymer được lựa chọn là những polymer có khả năng phân hủy sinh học nên sau khi phân hủy chúng lại trở thành chất dinh dưỡng cho đất rất phù hợp với tiêu chí bảo vệ môi trường, có thể tiết

kiệm được thời gian và chi phí lao động. Để bao bọc các loại phân NPK nhả chậm, tiến hành tổng hợp màng tinh bột/ PVA biến tính và tạo hạt bằng phương pháp phun sương. Các kết quả khảo sát quá trình nhả chậm phân từ màng bao ở qui mô phòng thí nghiệm trên nhiều nền đất khác nhau cho thấy kết quả nhả các thành phần N, P, K kéo dài trên 3 tháng nên rất thích hợp để ứng dụng cho các loại cây trồng trong nông nghiệp. Kết quả thử nghiệm trên cây cà phê, chè và bắp ở Tây Nguyên cho thấy cho năng suất tương đương hoặc hơn đôi chứng khi sử dụng phân nhả chậm giảm 30% so với phân thông thường góp phần tăng hiệu quả kinh tế cho người dân.

1.3. TÌNH HÌNH ỨNG DỤNG CÁC CHẾ PHẨM SINH HOÁ HỌC TRONG PHÁT TRIỂN CÂY CÀ PHÊ VÀ HỒ TIÊU BỀN VỮNG TẠI TÂY NGUYÊN

1.3.1. Ứng dụng chế phẩm phân bón sinh học cho cây trồng ở Tây Nguyên

Mặc dù phân bón sinh học đã được nghiên cứu từ lâu, nhưng có lẽ do nhiều yếu tố chủ quan và khách quan khác nhau nên mức độ ứng dụng cho từng cây trồng còn rất hạn chế. Mặt khác, các loại phân bón đã sản xuất cung ứng mới chỉ được sản xuất từ một số loài vi sinh vật nhất định (cố định nitơ cộng sinh, hội sinh tự do, phân giải lân...), hiệu quả sử dụng các loại phân này trên các cây trồng khác nhau, địa phương khác nhau là không giống nhau. Nguyên nhân của hiện tượng này là do sự phong phú, đa dạng của hệ vi sinh vật đất và tác động qua lại nhiều chiều của các vi sinh vật với nhau, của vi sinh vật với cây trồng và điều kiện môi trường.

a. Đối với cây cà phê

Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đang dự thảo Quy hoạch phát triển cây cà phê đến năm 2020 và tầm nhìn 2030 và trình Chính phủ phê duyệt, theo định hướng phát triển cây cà phê những năm tới là phải sản xuất bền vững, nâng cao chất lượng, nâng cao giá trị chế biến sâu, huy động được các nguồn lực kinh tế và đáp ứng được các yêu cầu thị trường.

Mở rộng sản xuất các loại cà phê có chứng chỉ và từng bước áp dụng Bộ nguyên tắc chung cho cộng đồng cà phê (4C) phát triển cà phê bền vững, gắn với vệ sinh an toàn thực phẩm (Chỉ thị số 1341/CT-BNN-TT của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, ngày 17/5/2007, về việc phát triển, nâng cao chất lượng cà phê).

Trong các năm qua, Viện Khoa học Nông lâm nghiệp Tây Nguyên đã có những kết quả nghiên cứu trong quản lý dịch hại trên cây cà phê theo hướng sản xuất bền vững, bao gồm: chọn lọc các giống cà phê kháng bệnh gỉ sắt [Catimor và 10 con lai F1 (TN1- TN10)]; các biện pháp thực hành nông nghiệp tốt (GAP) (vệ sinh đồng ruộng, các biện pháp quản

lý tiểu khí hậu, các biện pháp quản lý đất và nước); biện pháp sinh học; áp dụng biện pháp hóa học hợp lý (Trần Kim Loang, 2008 - Hội thảo Quản lý dịch hại tổng hợp góp phần phát triển sản xuất cà phê bền vững).

Chi cục Bảo vệ thực vật tỉnh Đắk Lắk, Gia Lai, Lâm Đồng đã phối hợp với một số cơ quan nghiên cứu thực hiện bước đầu có kết quả việc ứng dụng thực tế quản lý dịch hại tổng hợp (IPM) và một số giải pháp nông học nâng cao năng suất cà phê bền vững (Báo cáo tại hội thảo khoa học về quản lý dịch hại tổng hợp trên cây cà phê, 2007).

Một số mô hình quản lý cây cà phê tổng hợp trong sản xuất cà phê bền vững cũng đã được thực hiện trong các năm qua ở các tỉnh Gia Lai, Đắk Lắk do một số cơ quan khoa học (Viện Khoa học kỹ thuật miền Nam, Viện Khoa học Nông lâm nghiệp Tây Nguyên, Viện Bảo vệ thực vật đã mang lại hiệu quả ban đầu khá tốt. Từ các mô hình này đã được mở rộng xây dựng một số diện tích cà phê chất lượng cao (Kỷ yếu tổng kết 5 năm công tác KHKT-BVTV các tỉnh miền Trung và Tây Nguyên 2005-2010).

b. Đối với cây hồ tiêu

Hồ tiêu là loại cây gia vị dễ trồng, có thể cho thu nhập kinh tế cao, đã và đang là cây góp phần quan trọng vào việc xóa đói giảm nghèo cho nhiều vùng khô cằn, khó khăn về kinh tế, vùng sâu vùng xa khu vực miền Trung, Tây Nguyên. Chính vì thế trong những năm gần đây, cây hồ tiêu đang được nông dân nhiều tỉnh chọn đưa vào cơ cấu cây trồng phát triển. Đến nay diện tích trồng hồ tiêu cả nước khoảng trên 50.000 ha, sản lượng gần 100.000 tấn. Tuy nhiên, sản xuất hồ tiêu các năm qua ở nước ta chưa ổn định, năng suất thấp, thu nhập của người sản xuất chưa cao. Một trong những nguyên nhân chính dẫn đến thực trạng này là trong canh tác cây hồ tiêu còn quá lạm dụng phân bón vô cơ hóa học; dịch hại (vàng lá, thối rễ rụng lóng, bệnh chết nhanh, bệnh chết chậm gây ra do nấm và tuyến trùng...) đã gây chết hàng trăm ha hồ tiêu đang thời kỳ thu hoạch (Cục Bảo vệ thực vật, 2007).

Quan điểm và phương hướng phát triển lâu dài về cây hồ tiêu là “phát huy lợi thế và tiềm năng của mỗi vùng, mỗi địa phương để mở rộng diện tích, khắc phục tình trạng sản xuất manh mún, tự phát hiện nay nhằm xây dựng các vùng sản xuất tập trung chuyên canh, tạo ra khối lượng hàng hóa đủ lớn, chất lượng, có sức cạnh tranh cao trên thị trường. Trong những năm trước mắt phải tăng cường thâm canh cây hồ tiêu để đạt năng suất cao hơn, thay đổi công nghệ thu hoạch và chế biến để tăng tỷ lệ tiêu trắng lên 30% sản lượng” (Kế

hoạch phát triển cây hồ tiêu từ 2007 đến 2010 và tầm nhìn 2020- Bộ Nông nghiệp Phát triển nông thôn).

Trong chương trình Công nghệ sinh học, Viện Bảo vệ thực vật đã nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học phân bón hữu cơ đa chức năng MT-1 dạng bón gốc, với lượng 1.400-1.600 kg/ha có thể bón đơn hoặc trộn lẫn với phân chuồng đã ủ hoại mục hoặc phân hữu cơ sinh học để bón có hiệu quả phòng trừ bệnh chết nhanh, chết chậm trên cây hồ tiêu (Viện Bảo vệ thực vật, 2007. Dịch hại chính trên cây hồ tiêu và biện pháp phòng trừ).

Các loại phân bón hữu cơ vi sinh đã đăng ký và khảo nghiệm đưa vào phục vụ sản xuất cà phê, chè, hồ tiêu như MT1 (SH1), TN-3, TN-4 và riêng cho cây cà phê có CF mùa khô 15,5,5,5; CFS – VL 17.7.17.3, phân bón đầu trâu, phân bón hữu cơ sản xuất từ vỏ cà phê...; cho cây chè như phân hữu cơ sinh học Sông Gianh, Phân hữu cơ sinh học Quốc Việt, phân hữu cơ sinh học NPK 16.16.0,...; cho cây hồ tiêu như phân hữu cơ sinh học demax bao xanh, phân hữu cơ sinh học demax bao trắng, phân hữu cơ sinh học T1, T2, T3,...

1.3.2. Ứng dụng chế phẩm sinh học phòng trừ sinh vật hại cho cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên

a. Hiện trạng về dịch hại cho cây trồng ở Tây Nguyên

Cây cà phê, cây chè và cây hồ tiêu là những cây trồng lâu năm, bị nhiều loài sâu, bệnh xâm nhiễm và gây hại làm giảm chất lượng vườn cây, giảm năng suất và chất lượng nông sản, gây thiệt hại lớn cho sản xuất. Một số dịch hại chính gặp phải trên cây cà phê và hồ tiêu là:

- Trên cây cà phê là các loài sâu đục thân, rệp sáp, mọt đục cành, mọt đục quả, bệnh gỉ sắt, bệnh khô cành, khô quả ...

- Trên cây hồ tiêu là rệp sáp, các bệnh chết nhanh, bệnh chết chậm, bệnh vi rút (tiêu diên), bệnh thán thư, bệnh tuyến trùng, bệnh mốc hồng...

b. Nghiên cứu ứng dụng các chế phẩm sinh học phòng chống dịch hại cho cây trồng ở Tây Nguyên

Nhiều nghiên cứu ứng dụng các chế phẩm sinh học trên cây cà phê, hồ tiêu đã cho nhiều kết quả phòng trừ dịch hại tốt.

- Kết quả nghiên cứu sử dụng nấm đối kháng *Trichoderma* sp đơn độc hoặc ủ với phân hữu cơ trong phòng chống bệnh chết nhanh và bệnh chết chậm cây hồ tiêu và nhiều cây

trồng cạn khác hiệu quả đạt 60 - 72% (Cục Bảo vệ thực vật, 2003. Báo cáo kết quả mô hình quản lý tổng hợp bệnh hại hồ tiêu tại Quảng Trị và Bình Phước).

- Các chế phẩm sinh học diệt côn trùng được nghiên cứu, sản xuất từ các nấm *Metarhizium anisopliae*, *Beuveria bassiana*, *Streptomyces* sp,... là các sản phẩm của các đề tài nghiên cứu từ Viện BVTV, Viện Môi và Côn trùng có hại, Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long,... đã được thử nghiệm phòng chống nhiều loài sâu hại thuộc các bộ cánh cứng (Coleoptera), bộ cánh đều (Homoptera), bộ cánh vảy (Lepidoptera)...

- Quá trình sử dụng vi nấm *M. anisopliae* (Ma) có hiệu lực cao đối với rệp sáp giả *Dysmicoccus* sp hại cây na, phun ở nồng độ 9×10^8 bào tử/ml kiểm soát được 82,2% rệp sáp giả sau 5 ngày xử lý. Cả 4 nồng độ 1×10^8 , 5×10^8 , 7×10^8 và 9×10^8 /ml đều có khả năng diệt rệp 100% sau 21 ngày xử lý. Tuy nhiên hiệu quả trừ rệp sáp giả của Ma trên cây na ở điều kiện đồng ruộng ngoại ô thành phố Hồ Chí Minh thấp hơn so với ở phòng thí nghiệm, nhưng cũng đạt 56-78% (Võ Thị Thu Oanh *et al*, 2008).

- Nguyễn Xuân Thanh, Phạm Thị Thùy (2005), đã nghiên cứu sử dụng nấm *Metarhizium anisopliae* dưới dạng dịch bào tử ở nồng độ 10^8 bào tử/ml để phòng trừ rệp sáp hại rễ cà phê, hiệu quả đối với thí nghiệm trong phòng đạt 70-100% sau 7 ngày, thí nghiệm ngoài đồng ruộng đạt 75% sau 7 ngày và 100% sau 14 ngày, phun lên hỗn hợp phân hữu cơ xốp bón quanh gốc và giữ ẩm đạt hiệu quả 90% sau 45 ngày và 70% sau 12 tháng.

- Phan Xuân Thanh *et al*, 2005, đã nghiên cứu sử dụng chế phẩm thảo mộc Sông Lam 333 và Sông Lam A dùng đơn lẻ (0,3%) hoặc hỗn hợp với thuốc hóa học trừ sâu (Padan, Monster) đều cho hiệu lực trừ rầy xanh hại chè ở mức trung bình khá trở lên và thuốc BVTV hóa học phối trộn giảm được một nửa liều lượng. Chế phẩm thảo mộc Sông Lam 333 ở nồng độ 0,15-0,3% đều có hiệu lực thấp đối với bọ cánh tơ, nhện đỏ hại chè, nhưng khi hỗn hợp với thuốc trừ sâu (Padan, Monster) hiệu lực từ trung bình khá trở lên.

- Chế phẩm nấm *Beuveria bassiana* có hiệu lực cao trong trừ bọ hà hại khoai lang (thí nghiệm trong phòng) ở nồng độ 2g chế phẩm/100ml nước. (Nguyễn Thị Kim Oanh, 2002).

- Chủng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* tổng hợp tinh thể hình quả trám là có gen CryI có hoạt chất diệt côn trùng bộ cánh vảy và sâu cao tương đương với chủng *B. Azawai* (đã được thương mại). Chế phẩm *Bt* do Viện Công nghệ sau thu hoạch sản xuất ở quy mô pilot

lượng 80 lit/m² đã cho hoạt tính diệt sâu cao đối với côn trùng bộ cánh vảy hại rau quả, nông sản bảo quản và rẻ hơn, an toàn hơn dùng thuốc trừ sâu hóa học (Nguyễn Thùy Châu et al, 2000; Bùi Thị Hương et al, 2000). Chế phẩm *Bt* này có hiệu quả trừ sâu róm hại thông (*Dendrotilimus punctatus*) Đào Xuân Trường, 1992); Thuốc trừ sâu vi sinh Firibiotox – P sản xuất từ chủng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* tại Viện CNTP có hiệu lực trừ sâu cuốn lá lúa loại nhỏ từ 74,1 – 84,8% (Nguyễn Thị Hoài Trâm et al, 2005).

- Các chế phẩm sinh học diệt côn trùng, nấm bệnh được nghiên cứu, sản xuất từ vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* như Bt, Vi-Bt, Biobac, ... đã được sử dụng trong phòng chống nhiều loài sâu, bệnh hại cây trồng có hiệu quả.

- Các chế phẩm sinh học diệt côn trùng được nghiên cứu, sản xuất từ 2 giống tuyến trùng *Steinernema* và *Heterorhabditis* đã đưa vào sản xuất thử nghiệm. Tuy nhiên, giá thành còn cao, khả năng bảo quản còn khó khăn nên chưa đưa vào sử dụng trên diện rộng.

- Các chế phẩm sinh học diệt côn trùng được nghiên cứu, sản xuất từ vi rút cũng đã được Viện BVTV và một số cơ quan khoa học khác đã đưa ra một số sản phẩm NPV... phục vụ công tác phòng chống dịch hại cây trồng.

- Các sản phẩm sinh học phòng chống dịch hại sản xuất từ thảo mộc và các hợp chất tự nhiên như các chế phẩm Anisaf SH-01, Delfil, CCR, TN3, TN4...:

Sản phẩm Anisaf SH-01 được nghiên cứu và đăng ký lưu hành trong danh mục thuốc bảo vệ thực vật (năm 2005) bởi viện ITC. Thuốc Anisaf SH-01 có tác dụng phòng trừ sâu bệnh phổ rộng, hiệu lực cao; đã được nghiên cứu sử dụng nhiều trên cây chè, thuốc lá, rau. Kết quả thí nghiệm tại vùng chè Phú Lương (Thái Nguyên) trong năm 2005 cho thấy Anisaf SH-01 có hiệu quả hạn chế tác hại của bọ xít muỗi hại chè. Hiệu lực của chế phẩm đạt thấp nhất cũng tương tự như hiệu lực của thuốc Pandan 95SP; trường hợp đạt cao nhất có thể đạt trung bình tới 88,1 - 90,4%. Thuốc phun vào thời điểm vết chích của bọ xít muỗi còn nhỏ li ti sẽ cho hiệu quả cao hơn so với khi phun vết chích đã rõ ràng. Còn kết quả nghiên cứu năm 2008 tại Công ty chè Mỹ Lâm (Tuyên Quang) cho thấy: thuốc Anisaf SH – 01 có hiệu lực diệt rầy xanh đạt 71,5 – 85,8 %; hiệu lực diệt bọ cánh tơ đạt 60 -80 %; hiệu lực của thuốc đối với nhện đỏ đạt từ 50 – 66,7 %; hiệu lực của thuốc đối với bọ xít muỗi đạt từ 60 - 62 %. Ngoài ra các nghiên cứu khác cũng cho biết: thuốc có thể sử dụng trong phòng trừ sâu bệnh cho nhiều loại cây trồng khác nhau với các phương pháp

sử dụng hợp lý phù hợp cho từng loại cây (*đã được nghiên cứu thăm dò trên cây Vải, Cà phê, Hồ tiêu, Thanh long, Nho, Bưởi, Cam*). Qua các nghiên cứu của Viện ITC cho thấy thuốc có hiệu lực phòng trừ sâu ăn miệng (như sâu xanh, sâu xám, sâu róm...) và các loại bọ chích hút (bọ xít, rầy xanh, rầy nâu, rệp sáp, bọ cánh tơ ...).

Qua thực tế sử dụng trên cây Chè tại Tân Cương, Thái Nguyên và cây Vải tại 2 huyện Tân Yên và Lục Ngạn, Bắc Giang, Viện ITC đã phối hợp cùng Cục BVTV, viện BVTV và các chi cục BVTV địa phương khẳng định hiệu lực tốt của thuốc trong phòng trừ sâu bệnh tổng hợp cho Chè và Vải thiều sạch sản xuất theo hướng hữu cơ bền vững. Đã xây dựng thành công mô hình canh tác chè sạch và vải thiều sạch ứng dụng duy nhất sản phẩm thuốc BVTV sinh học Anisaf SH-01 trong phòng trừ dịch hại (Sâu hại và bệnh) cho Chè tại Tân Cương, Thái Nguyên và Vải thiều tại Bắc Giang.

Thuốc trừ sâu thảo mộc Anisaf SH-01 có tác dụng ức chế men NADH₂ dehydrogenase trong chuỗi hô hấp của côn trùng, độc tính này chỉ thể hiện đối với côn trùng, không gây độc cho người và động vật có vú. Thuốc Anisaf SH-01 có tác dụng tăng cường miễn dịch cũng như khả năng kháng sâu bệnh tự nhiên của cây trồng theo nguyên tắc “Đối kháng sinh tồn”. Ngoài tác dụng tiêu diệt, thuốc còn có tác dụng xua đuổi côn trùng và ức chế chu kỳ phát dục của côn trùng. Vì vậy thuốc cũng có tác dụng hạn chế sự di chuyển đến phá hoại cây trồng của các loại bọ có cánh và góp phần giảm sự bùng phát của các loại sâu vào thời kỳ sâu nở.

Thuốc Anisaf SH-01 phát huy tác dụng theo cả 2 đường tiếp xúc và đường nội hấp. Phương pháp sử dụng theo cả đường tưới và đường phun để cho các đặc tính về hiệu lực khác nhau. Thuốc được bào chế từ các hợp chất thiên nhiên, thân thiện với sinh lý phát triển của cây trồng (không gây đối kháng sinh lý).

1.4. NGHIÊN CỨU HOÀN THIỆN CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CÁC CHẾ PHẨM SINH HOÁ HỌC TRONG PHÁT TRIỂN NÔNG NGHIỆP BỀN VỮNG

Quá trình nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất các sản phẩm công nghệ thực chất là quá trình nghiên cứu để nâng cấp quy mô công nghệ từ quy mô phòng thí nghiệm đến quy mô pilot và cuối cùng là quy mô công nghiệp.

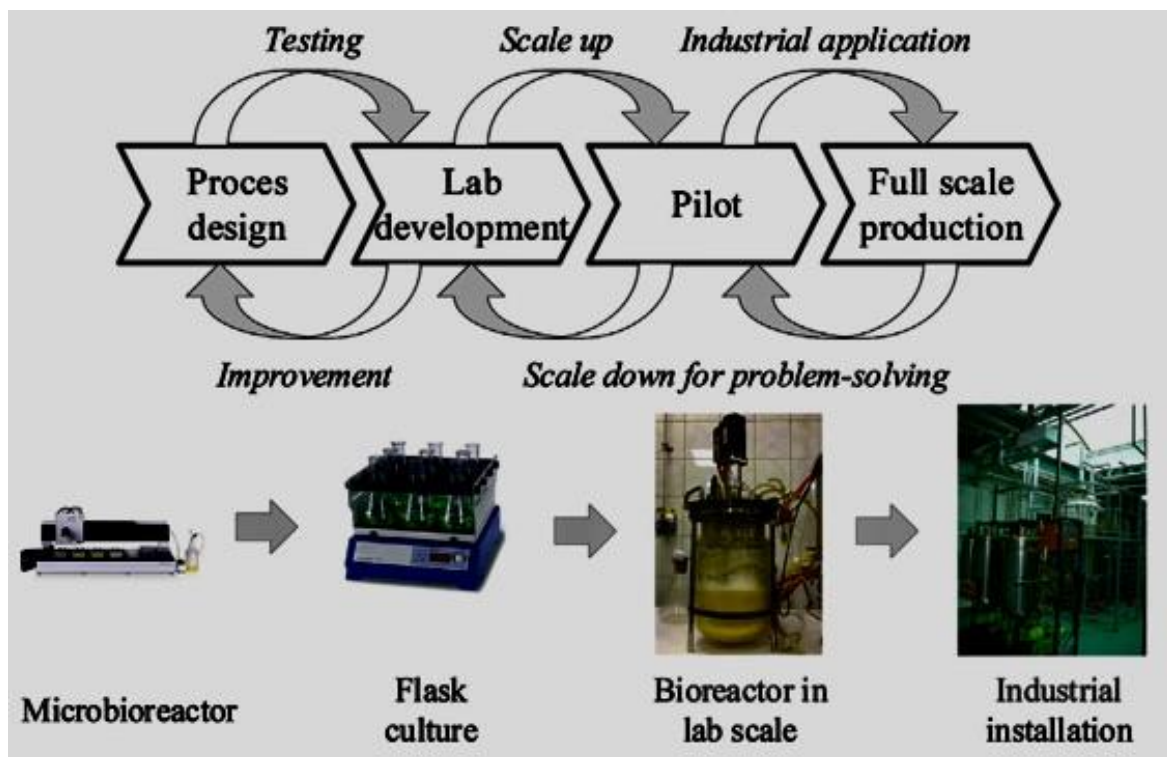
Để tiến tới đưa một số sản phẩm công nghệ được lựa chọn từ kết quả chương trình Tây Nguyên 3 giai đoạn 2011-2015 ra phục vụ thực tiễn, đề tài TN16C02 tập trung nghiên cứu nâng cấp quy mô công nghệ cho các sản phẩm lên các quy mô cao hơn, đồng thời tìm

kiểm các mô hình sử dụng tích hợp các chế phẩm để phát triển nông nghiệp bền vững và hiệu quả ở Tây Nguyên. Các nghiên cứu tập trung vào:

(1). Hoàn thiện quy trình công nghệ sản xuất ở quy mô phòng thí nghiệm với chế phẩm HTD CNSH-CF; nâng cấp từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô pilot đối với các chế phẩm sinh học CAFE HTD-01, HOTIEU HTD-03, phân bón nhà chậm; nâng cấp từ quy mô pilot lên quy mô công nghiệp với chế phẩm POLYFA TN3.

(2). Hoàn thiện quy trình sử dụng chế phẩm và đánh giá tác dụng, hiệu quả kinh tế khi sử dụng các chế phẩm trong thực tế (khảo nghiệm) đối với các chế phẩm CAFE HTD-01, HOTIEU HTD-03, phân bón nhà chậm, POLYFA TN3 và thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01.

(3). Nghiên cứu quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học nhằm phát triển cà phê và hồ tiêu bền vững và hiệu quả ở Tây Nguyên.



Hình 1.1. Quá trình nâng cấp quy mô công nghệ sản xuất các chế phẩm vi sinh
(Sikander Ali và cs.)

Trong công nghệ vi sinh, các công nghệ thành phần được chia thành 4 giai đoạn chính bao gồm:

- **Giai đoạn tạo giống:** giai đoạn này tạo ra chủng giống tốt, là yếu tố đầu tiên và quyết định lớn đến năng suất, chất lượng, khả năng cạnh tranh của sản phẩm.

- **Giai đoạn bảo quản chủng giống:** giai đoạn này giữ khả năng sống sót, tính ổn định và duy trì hoạt tính của chủng giống.
- **Giai đoạn nhân giống, nhân sinh khối:** giai đoạn này thường sẽ đi kèm với một hệ thống thiết bị lên men chuyên biệt cho từng loại đối tượng vi sinh vật, sản phẩm.
- **Giai đoạn thu hồi sinh khối và tạo sản phẩm:** công đoạn cuối cùng trước khi đưa sản phẩm ra thương mại.

Bảng 1.1. Quy mô và tình trạng công nghệ của các chế phẩm trước hoàn thiện

STT	Giai đoạn công nghệ	Quy mô/Sản phẩm/Tình trạng công nghệ		
		Phòng thí nghiệm (PTN)	Quy mô pilot (PL)	Quy mô công nghiệp (CN)
		HTD CNSH-CF	CAFE HTD-01, HOTIEU HTD-03	POLYFA TN3
1.	Tạo giống	Tạo mới	Đã có	Đã có
2.	Bảo quản chủng giống	Tạo mới	Đã có	Đã có
3.	Nhân giống, nhân sinh khối	Tạo mới	Nâng cấp từ PTN lên PL	Nâng cấp từ PL lên CN
4.	Thu hồi và tạo sản phẩm	Tạo mới	Nâng cấp từ PTN lên PL	Nâng cấp từ PL lên CN

1.4.1. Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm CAFE HTD-01

Ở giai đoạn 2011-2015, đề tài TN3/C01 (chương trình Tây Nguyên 3) đã phân lập và tuyển chọn được tập hợp các chủng VSV chức năng từ đất trồng cà phê tại Tây nguyên gồm: các chủng VSV cố định đạm và đồng thời sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật IAA; VSV phân giải lân và VSV đối kháng với một số loại nấm gây bệnh cho cây trồng. Từ các chủng phân lập được đã tuyển chọn và phân loại đến loài được 5 chủng VSV hữu ích (*Azotobacter chroococum* Ab-CF 7.2; *Acetobacter diazotrophicus* Ac-CF2.2; *Azospirillum brasilense* As-CF1.5; *Bacillus subtilis* VL-CF7.3; và *Pseudomonas fluorescens* ĐK-CF4.5) dùng để sản xuất chế phẩm VSV chức năng cho cây cà phê và đã xây dựng được quy trình sản xuất chế phẩm CAFE HTD-01 ở quy mô phòng thí nghiệm.

Để nâng cấp quy mô cho chế phẩm từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô pilot cần thiết tiến hành xây dựng quy trình sản xuất chế phẩm CAFE HTD-01 ở quy mô pilot (1000kg/mẻ) gồm các bước sau:

1. Hoàn thiện quy mô nhân giống cấp 2 các chủng VSV trên các thiết bị lên men
2. Lựa chọn các chất mang phù hợp nhằm đảm bảo sự ổn định về số lượng và hoạt tính của các chủng VSV trong chế phẩm (bổ sung thêm cao lanh vào thành phần chất mang và bột CaCO₃) vào chế phẩm nhằm ổn định pH và độ ẩm;
3. Hoàn thiện quy trình lên nhân sinh khối tạo chế phẩm trên thiết bị lên men xốp.
4. Lựa chọn bao bì bảo quản phù hợp cho chế phẩm CAFE HTD-01.

5. Hoàn thiện quy trình sử dụng và tiến hành nghiên cứu khảo nghiệm cho chế phẩm

1.4.2. Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm HOTIEU HTD-03

Ở giai đoạn 2011-2015, đề tài TN3/C01 (chương trình Tây Nguyên 3) đã phân lập và tuyển chọn được tập hợp các chủng VSV chức năng từ đất trồng hồ tiêu tại Tây nguyên gồm: các chủng VSV cố định đạm và đồng thời sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật IAA; VSV phân giải lân và VSV đối kháng với một số loại nấm gây bệnh cho cây trồng. Từ các chủng phân lập được đã tuyển chọn và phân loại đến loài được 5 chủng VSV hữu ích (*Azotobacter vinelandii* Ab-HT 14.2; *Acetobacter diazotrophicus* Ac-HT 4.1; *Azospirillum brasilense* As-HT 14.1; *Pseudomonas putida* VL-HT 14.5; và *Bacillus subtilis* ĐK-HT T4.5) được phân lập từ đất trồng hồ tiêu dùng để sản xuất chế phẩm VSV chức năng cho cây cà phê và xây dựng được quy trình sản xuất chế phẩm HOTIEU HTD-03 ở quy mô phòng thí nghiệm.

Để nâng cấp quy mô cho chế phẩm từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô pilot cần thiết tiến hành xây dựng quy trình sản xuất chế phẩm CAFE HTD-01 ở quy mô pilot (1000kg/mẻ) gồm các bước sau:

1. Hoàn thiện quy mô nhân giống cấp 2 các chủng VSV trên các thiết bị lên men;
2. Lựa chọn các chất mang phù hợp nhằm đảm bảo sự ổn định về số lượng và hoạt tính của các chủng VSV trong chế phẩm (bổ sung thêm cao lanh vào thành phần chất mang và bột CaCO₃) vào chế phẩm nhằm ổn định pH và độ ẩm;
3. Hoàn thiện quy trình nhân sinh khối tạo chế phẩm trên thiết bị lên men xốp.
4. Lựa chọn bao bì bảo quản phù hợp cho chế phẩm HOTIEU HTD-03.

5. Hoàn thiện quy trình sử dụng và tiến hành nghiên cứu khảo nghiệm cho chế phẩm

1.4.3. Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất chế phẩm POLYFA TN3

Ở giai đoạn 2011-2015, đề tài TN3/C10 (chương trình Tây Nguyên 3) đã cho ra chế phẩm POLYFA TN3 là một loại phân hữu cơ vi sinh phù hợp với điều kiện đất trồng ở Tây Nguyên cho các loại cây công nghiệp như hồ tiêu, cà phê... sản xuất ở quy mô pilot nhỏ có tác

dùng tăng cường sức chống chịu của cây trồng đối với một số nguồn bệnh nấm thực vật, thúc đẩy quá trình sinh trưởng của cây trồng, cải thiện đất hoàn thổ sau khai thác bauxite tại Tây Nguyên, tăng độ phì của đất để có thể trồng các loại cây công nghiệp có giá trị kinh tế.

Để sản xuất lượng lớn chế phẩm sinh học, đáp ứng được nhu cầu sử dụng trong thực tiễn, thì phải nâng cao từ quy mô pilot lên quy mô công nghiệp, sau đó là quy mô công nghiệp. Để thực hiện mục tiêu nâng cấp quy mô công nghệ sản xuất chế phẩm cần thiết: (1) Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất chế phẩm POLYFA TN3 ở quy mô công nghiệp với thể tích khối ủ từ 100m³; (2) Hoàn thiện quy trình sử dụng và tiến hành nghiên cứu khảo nghiệm cho chế phẩm.

1.4.4. Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất phân bón nhả chậm

Ở giai đoạn 2011-2015, đề tài TN3/C04 (chương trình Tây Nguyên 3) đã nghiên cứu quy trình công nghệ sản xuất phân bón nhả chậm bằng một loại vật liệu có thể mang phân urea và NPK được điều chế dựa trên phản ứng tạo ure-formaldehyt từ urea và formalin. Đề tài đã hoàn thành quy trình sản xuất quy mô phòng thí nghiệm các loại phân urea và NPK nhả chậm cho cây cà phê với các công thức NPK 15-20-10, NPK 15-18-18, NPK 20-0-18.

Để nâng cấp quy mô công nghệ cho chế phẩm phân bón NPK nhả chậm ứng dụng cho cây cà phê cần thiết tiến hành: (1) Hoàn thiện quy trình công nghệ sản xuất loại phân bón này ở quy mô pilot với các công thức chuyên biệt sử dụng cho cây cà phê; (2) Hoàn thiện quy trình sử dụng và tiến hành nghiên cứu khảo nghiệm cho sản phẩm.

Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU

2.1.1. Các chủng VSV gốc

Thông tin chi tiết về các chủng VSV gốc sử dụng trong nghiên cứu hoàn thiện công nghệ được liệt kê ở Bảng PL.1.1 (phụ lục). Các chủng VSV gốc được bảo quản tại phòng thí nghiệm trong Glycerin lỏng ở -80°C. Trước khi đưa và sản xuất chủng được hoạt hóa trên đĩa thạch chứa môi trường tương ứng cho từng loại VSV. Các chủng sau khi đã hoạt hóa trên đĩa thạch được kiểm tra hoạt tính. Sau đó được cấy trong ống thạch nghiêng nuôi ở 30°C sau đó bảo quản trong tủ lạnh ở 4°C để dùng trong sản xuất trong thời hạn 6 tháng.

2.1.2. Các chế phẩm sinh, hóa học sử dụng trong nghiên cứu

Chế phẩm vi sinh chức năng cho cà phê CAFE HTD-01 (thành phần gồm các chủng VSV chức năng: *A. chroococum* Ab-CF7.2, *Ac. diazotrophicus* Ac-CF 2.2, *Az. brasilense* As-CF 1.5, *B. subtilis* VL-CF 7.3, *A. tubingensis* ML-CF 1.3) có tác dụng cố định đạm, phân giải lân và kích thích sinh trưởng do viện Công nghệ sinh học và trung tâm Phát triển Công nghệ cao - viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp.

Chế phẩm vi sinh chức năng cho hồ tiêu HOTIEU HTD-03(thành phần gồm các chủng VSV chức năng: *Azotobacter vinelandii* Ab-HT 14.2; *Acetobacter diazotrophicus* Ac-HT 4.1; *Azospirillum brasilense* As-HT 14.1; *Bacillus subtilis* ĐK-HT4.5, *Aspergillus niger* ML-HT 14.2) có tác dụng cố định đạm, phân giải lân và kích thích sinh trưởng do viện Công nghệ sinh học và trung tâm Phát triển Công nghệ cao - viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp.

Phân bón vi sinh cải tạo đất POLYFA TN3 có thành phần gồm hữu cơ (22%), humat kali (2,0%), NPK (1,5:3,5:2,5), các VSV chức năng (*Bacillus megaterium* (BX-F9; CFB3; CFVP17); *Bacillus subtilis* (TIVP18; CF III), *Bacillus flexus* (TIB6), *Streptomyces diastatochromogenes* (CM_{5.11}cdk), *Penicillium oxalicum* (N₁ CS₁trk , TiN1)) có tác dụng cố định cố định đạm, phân giải lân, phân giải cellulase, phân giải thuốc BVTV, đối kháng với sinh vật gây hại do viện Nghiên cứu Khoa học Miền Trung - viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp.

Phân bón nhả chậm NPK 15.18.18, NPK 20.0.18 bao gồm các nguyên tố đa lượng gồm N, P, K theo công thức do viện Khoa học vật liệu ứng dụng - viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp.

Thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 có thành phần là các polyphenol chiết xuất từ thực vật, số đăng ký: 3241/11 RR do viện Nghiên cứu Đào tạo và Tư vấn khoa học công nghệ, Liên hiệp các hội khoa học và kỹ thuật Việt Nam cung cấp.

2.1.3. Mẫu thực vật

Mẫu thân, rễ, lá cà phê và hồ tiêu được thu thập sử dụng để nghiên cứu phân lập các chủng VSV nội sinh chức năng và phân tích hàm lượng các chất ... Yêu cầu kỹ thuật tùy thuộc vào mục đích thí nghiệm.

Để phân lập VSV nội sinh cần lựa chọn cây cà phê khỏe không hoặc ít biểu hiện bệnh được thu thập trực tiếp tại các vườn ở vùng Buôn Ma Thuột, Tây Nguyên, Việt Nam. Lá nguyên không bị rách, thân và rễ hạn chế bị chầy... được thu thập, bảo quản lạnh trong túi nilong kín.

Thí nghiệm tích hợp các chế phẩm sinh hoá học sử dụng mẫu lá thu thập tại các vườn cà phê, hồ tiêu tham gia thí nghiệm, thời điểm thu mẫu là trước khi tiến hành thí nghiệm và sau khi bón đạm, lân, kali 15 đến 20 ngày ở mỗi đợt bón theo từng thí nghiệm được chia làm 4 lần (1 lần trong mùa khô sau lần tưới thứ hai vào tháng 4; 3 lần trong mùa mưa vào cuối tháng 5, 7 và 9. Mẫu lá sau khi lấy về được rửa sạch, thấm khô, bảo quản lạnh để tiến hành phân tích hàm lượng các nguyên tố trong lá.

2.1.4. Mẫu đất

Mẫu đất được lấy để phục vụ phân tích các chỉ tiêu lý, hóa, sinh đất. Mẫu lấy theo hình chiếu tán lá (cách gốc từ 1,2 - 1,4 m), lấy từ mặt đất xuống độ sâu 30 cm bằng khoan nông hóa chuyên dụng, mỗi cây lấy 1 mũi khoan, sau đó trộn đều làm mẫu đại diện cho ô.

2.1.5. Mẫu nông sản

Để đánh giá chất lượng mẫu nông sản cà phê và hồ tiêu của các địa điểm thí nghiệm, vào thời kỳ quả cà phê và hồ tiêu chín. Mẫu được thu và bảo quản theo các quy định chung về thu mẫu cà phê và hồ tiêu sống của bộ NN và PTNT.

2.1.6. Môi trường nuôi cấy VSV sử dụng trong nghiên cứu

Chi tiết các môi trường nuôi cấy sử dụng trong nghiên cứu chế phẩm được thể hiện bảng PL.1.2 và bảng PL.1.3 (phụ lục).

2.1.7. Hóa chất

Vật tư nông nghiệp phục vụ chăm sóc vườn cà phê và hồ tiêu: phân bón NPK, vôi, thuốc BVTV như Phytocide 50WP, Ridomil Gold 68WG, Tervigo 020SC, Mospilan 3 EC,... chế phẩm Trichoderma, phân bò hoai mục, phế thải đồng ruộng như vỏ hạt cà phê, cành lá cây,...

Các nguyên vật liệu phối trộn tạo chất mang cho quá trình lên men các chủng VSV: Cao lạnh, than bùn, cám gạo, tinh bột sắn,....

Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu VSV: các loại đường: D-glucoza, saccharoza, D-fructoza,... (Merck - Đức); Cao thịt (Meat extract) Biokar Dianogstique (Pháp). Cao men (Yeast extract), Biokar Dianogstique (Pháp), Agar (Việt Nam), cao nấm men (Merck - Đức); pepton (Merck - Đức); thạch (Merck - Đức); bột xenluloza (Nhật); CMC; tinh bột tan, các hóa chất vô cơ khác: Axetat natri CH_3COONa (Trung Quốc). Dipotassium hydrogen phosphat K_2HPO_4 (Trung Quốc). Potassium hydrogen photphat KH_2PO_4 (Trung Quốc). Ammonium citrat (Trung Quốc). Sunfat magiê $\text{MgSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$ (Trung Quốc). Sunfat mangan $\text{MnSO}_4.4\text{H}_2\text{O}$ (Trung Quốc). Pepton (Trung Quốc); NaCl (Việt Nam). KNO_3 (Trung Quốc); Sắt sunphat FeSO_4 (Trung Quốc)....

Các hóa chất sử dụng trong sinh học phân tử: Enzyme Taq DNA polymerase, dNTPs, thang chuẩn DNA 1 kb, bộ kit tinh sạch DNA plasmid GeneJET Plasmid Miniprep, bộ kit tinh sạch DNA từ gel agarose GenJET™ Gel Extraction. Các hóa chất sử dụng để tinh sạch DNA. Các hóa chất cơ bản sử dụng cho sinh học phân tử được mua từ hãng Sigma (Mỹ) và Merck (Đức) đều đạt độ tinh khiết cần thiết cho sinh học phân tử...

Các bộ kit chuẩn API: Kit API 20NE; Kit API 20 E và Kit API 50CHB sử dụng trong thí nghiệm phân loại VSV.

2.1.8. Thiết bị

Thiết bị lên men: nồi lên men chuyên dụng 5l, 20l; thùng lên men xốp inox, dung tích 14 lít, 80 lít, 150 lít. Nồi hấp khử trùng, tủ sấy; tủ ẩm, buồng cấy vô trùng, máy lắc ổn nhiệt, hệ thống lên men chìm; thiết bị phối trộn, đóng gói; bình, cốc thủy tinh, cốc định lượng, petri, ống nghiệm... và các trang thiết bị thông dụng trong phòng thí nghiệm.

Thiết bị chuyên dụng phục vụ cho giai đoạn sản xuất các chế phẩm.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Bảng 2.1. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

STT	Nội dung nghiên cứu	Phương pháp sử dụng
1.	Xác định mật độ VSV	Phương pháp Koch (TCVN 4833-89, ISO 4833-1978: Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30°C); (TCVN 4881-89, ISO 6887-1983: Hướng dẫn chung về cách pha chế dung dịch pha loãng để kiểm nghiệm VSV)
2.	Đánh giá khả năng sinh trưởng, phát triển của các chủng VSV	Các chủng VK được đánh giá thông qua đo mật độ quang học (OD) của dịch nuôi cấy trên máy so màu quang phổ ở bước sóng 620 nm. Chủng nấm mốc được đánh giá bằng lọc qua giấy lọc N°1: 50 ml dịch nuôi, thu sinh khối, sấy khô ở 105°C đến khối lượng không đổi, làm nguội trong desicator và cân (Grothe & cs., 1999).
3.	Xác định VK tổng số	Xác định VK tổng số trên môi trường MPA
4.	Xác định XK tổng số	theo TCVN 6168:2002
5.	Xác định nấm mốc tổng số	trên môi trường DG18, TCVN8275-2:2010
6.	Xác định VK <i>Azotobacter</i> cố định nitơ	Nhận biết khuẩn lạc VK <i>Azotobacter</i> trên môi trường Ashby không đạm (theo Erogov, 1983; Cavalcante & Dobereiner, 1988; Jimenez-Salgado & cs., 1997).
7.	Xác định VK <i>Azospirillum</i> cố định nitơ	Nhận biết khuẩn lạc VK <i>Azospirillum</i> cố định nitơ trên môi trường Rojo Công gô (Rodrigo, 1982).
8.	Xác định VK cố định đạm <i>Acetobacter</i>	Nhận biết khuẩn lạc VK <i>Acetobacter</i> cố định nitơ trên môi trường LGI (Cavalcante & Dobereiner, 1988)
9.	Xác định VK phân giải lân	Xác định số lượng VK phân giải lân trên môi trường Gerresen
10.	Phương pháp sàng lọc các chủng có khả năng chịu sắt	Sử dụng hai chỉ số MIC (Minimum Inhibitor Concentration: nồng độ ức chế tối thiểu) và MTC (Maximum Tolerance Concentration: nồng độ chịu đựng tối đa).
11.	Phương pháp xác định hoạt tính kết tụ sinh học	Phương pháp của Kurane (1986) được cải tiến bởi Zhang và cs

12.	Thử hoạt tính các chủng VSV phân hủy thuốc BVTV	Các chủng VSV được cấy ria trên môi trường tối thiểu có bổ sung thuốc BVTV như một nguồn carbon và nitơ duy nhất. Các chủng có khả năng phát triển trên môi trường tối thiểu có bổ sung thuốc BVTV có khả năng phân hủy thuốc BVTV
13.	Xác định khả năng đối kháng nấm gây bệnh của chủng VK <i>Bacillus</i> trong chế phẩm HOTIEU HTD-03	Các chủng VSV kiểm định được sử dụng gồm <i>Phytophthora</i> sp. gây thối rễ, đen thân lá, khô gié tiêu và thối quả làm cây chết nhanh; <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> hại rễ thâm đen, cây tăng trưởng chậm, lá úa vàng, rụng gây bệnh chết chậm; <i>Fusarium oxysporum</i> gây héo vàng. Dựa vào kích thước vòng đối kháng ta chia mức độ kháng theo các cấp sau: Không đối kháng (-): 0 mm; Đối kháng yếu (+): >0 - <2 mm; Đối kháng trung bình (++) : >2 - <4 mm; Đối kháng mạnh (+++): >4 mm
14.	Xác định khả năng hòa tan phốt phát của VK trong dịch nuôi.	Phương pháp Lowry và Lopes (1978)
15.	Tách lọc tuyến trùng di chuyển trong đất	Phương pháp Bearmann
16.	Phân loại VK nội cộng sinh	Phân loại VSV dựa trên hình thái (Sổ tay định loại VSV của Bergey, 1994; Robert & cs., 1996 và Frisvad & cs., 1998) và dựa trên kết quả thu nhận được tra khóa phân loại, xác định tên loài tương ứng. Phân loại VSV dựa trên các tiêu chí sinh lý và sinh hóa. Định tên VK dựa vào kết quả phân tích của phân mềm APILAB PLUS 3.3.3 cho kit API 20NE, API 20E và API 50 CH kết hợp với hệ thống phân loại VK của Bergey (1994). Phân loại VSV dựa trên trình tự gen, dựa trên trình tự gene 16S rRNA
17.	Đánh giá an toàn sinh học của các chủng VSV	Theo hướng dẫn số 90/679/EWG của Cộng đồng châu Âu về an toàn sinh học, nhóm tác nhân sinh học VSV được phân làm 4 cấp độ an toàn, trong đó chỉ các VSV ở cấp độ 1 và 2 được ứng dụng trong sản xuất.

18.	Phân tích đất và đánh giá chất lượng đất	<p>Phương pháp lấy mẫu đất: thu mẫu, bảo quản, vận chuyển và xử lý sơ bộ trong phòng thí nghiệm theo tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN) gồm TCVN 4046-85 (phương pháp lấy mẫu đất trong khu vực nông nghiệp), TCVN 4047-85 (đất trồng trọt - phương pháp chuẩn bị đất để phân tích), TCVN 5297-1995 (chất lượng đất - cách lấy mẫu - các yêu cầu chung).</p> <p>Các phương pháp phân tích các chỉ tiêu của đất: Xác định độ ẩm của đất theo TCVN 4196:2012; Phân tích pH_{KCl} theo TCVN 5979:2007 (ISO 10390:2005 và TCVN 4401:1987; Phân tích dung tích hấp thu (CEC) theo BS ISO 23470: 2007 và ISO 11260: 1994; Phân tích hàm lượng N tổng số theo TCVN 6645: 2000 (ISO 13878: 1998); Phân tích hàm lượng K tổng số theo TCVN 8660: 2011; Phân tích hàm lượng N dễ tiêu theo TCVN 5255: 2009; Phân tích hàm lượng P dễ tiêu theo TCVN 8661: 2011; Phân tích hàm lượng K dễ tiêu theo TCVN 8662: 2011; Phân tích hàm lượng kim loại nặng theo TCVN 8246: 2009 (EPA method 7000B); Phân tích hàm lượng Cu, Zn ... theo TCVN 6496: 2009;</p>
19.	Phân tích chất lượng nông sản	<p>Lấy mẫu, theo TCVN 5252; Xác định hàm lượng tro của cà phê, theo TCVN 5253; Xác định hàm lượng cafein, theo TCVN 6603:2000 (ISO 10095:1992); Xác định độ ẩm, theo TCVN 7035:2002 (ISO 11294:1994); Xác định cỡ hạt bằng sàng tay cà phê nhân theo TCVN 4807:2001; Xác định độ ẩm cà phê nhân (phương pháp thông thường), theo TCVN 6536: 1999; Xác định hàm lượng chất khô hòa tan hồ tiêu, theo TCVN 5610: 2007; Lấy mẫu hồ tiêu, theo TCVN 4889 – 1989 (ISO 948: 1980); Xác định hàm lượng tro tổng số của hạt hồ tiêu, theo TCVN 7038: 2002 (ISO 928: 1997); Xác định hàm lượng xơ của hạt hồ tiêu (%), theo TK TCVN 7514-93; Xác định hàm lượng piperin, theo TN4/HD/N3-99; Xác định khối lượng theo thể tích, theo TCVN 4045: 1993; Xác định hàm lượng tro tổng số của hạt hồ tiêu, theo TCVN 7038: 2002 (ISO 928: 1997);</p>
20.	Đánh giá chất lượng vệ sinh an toàn thực phẩm	<p>Xác định hàm lượng asen (As) theo AOAC 999-15: 2012; Xác định hàm lượng thủy ngân (Hg), chì (Pb) và cadmi (Cd), theo AOAC 999-10: 2012; Xác định hàm lượng Captan, carbaryl, carbonfuran và dimethoate theo AOAC 970.52; Xác định <i>coliform</i>, theo ISO 4831-2006; Xác định <i>E. coli</i>, theo ISO 7251- 2005; Xác định tổng số nấm men, nấm mốc, theo ISO 21257- 1,2/2008; Xác định <i>Salmonella</i>/25 theo ISO 6579- 2002;</p>
21.	Kiểm định phân bón nhà chậm	<p>Phương pháp thẩm kế ủ ẩm của tiến sĩ Jerry Sartain ở đại học Florida; Phương pháp kejdal theo TCVN 2620:2014; Phương pháp phổ hấp thu nguyên tử AAS dùng để kiểm tra hàm lượng Kali và TCVN 8560:2010; Phương pháp xác định hàm lượng photpho trong phân bón theo TCVN 8563:2010; Phương pháp lấy mẫu và</p>

		chuẩn bị mẫu theo TCVN 5815:2001; Phương pháp đánh giá độ ẩm của sản phẩm phân bón theo TCVN 9297-2012; Phương pháp xác định độ bền tĩnh (độc cứng) của hạt theo TCVN 4852-1989.
22.	Đánh giá các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển và năng suất cây cà phê.	Thông qua các chỉ số: Hàm lượng chlorophyll trong lá; Số lượng cành mang quả, chiều dài cành; Sự tăng trưởng đọt (đếm số đọt/cành ở đầu và cuối mùa mưa); Yếu tố cấu thành năng suất: Tình hình rụng quả (đếm số quả/chùm đầu mùa mưa và trước thu hoạch), Số chùm quả/cành thứ cấp, Số quả/chùm, Năng suất quả tươi; Năng suất nhân (hạt) khô (13% thủy phần); Hiệu quả kinh tế
23.	Đánh giá các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển và năng suất cây hồ tiêu	Hàm lượng chlorophyll trong lá; Chiều dài cành cơ bản, chiều dài cành thứ cấp; Cảm quan (màu sắc lá, độ bóng mượt của lá ...); Yếu tố cấu thành năng suất: Số chùm quả/cành, chiều dài chùm quả, số quả trên chùm, Năng suất thực thu; Dung trọng hạt, tỷ lệ hạt lép ...; Hiệu quả kinh tế
25.	Điều tra, đánh giá tình hình sâu bệnh hại	Phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng theo quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 01-38:2010/BNNPTNT Đánh giá hiệu lực của thuốc thảo mộc theo tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 12561:2018 thuốc bảo vệ thực vật – khảo nghiệm hiệu lực sinh học của thuốc trên đồng ruộng
26.	Xử lý số liệu	Số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê bằng các phần mềm Statistical Package for the Social Sciences (SPSS).

2.2. ĐỊA ĐIỂM THÍ NGHIỆM

Các vườn được lựa chọn thử nghiệm trong nghiên cứu phải đạt các tiêu chuẩn chung: (1) Đất trồng đạt tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 5255:1990 về tiêu chuẩn đất trồng trọt; (2) Nguồn nước tưới phải đạt quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng nước dùng trong tưới tiêu QCVN 39:2011/BTNMT; (3) Các vật tư nông nghiệp sử dụng cho vườn những năm trước phải nằm trong danh mục cho phép sử dụng của Bộ NN&PTNT và cục BVTV.

Thông tin vườn cà phê và hồ tiêu được lựa chọn trong các thí nghiệm khảo nghiệm diện rộng/điện hẹp các chế phẩm sinh, hóa học; xây dựng quy trình tích hợp và trình diễn mô hình thể hiện cụ thể ở Bảng PL.1.4 và Bảng PL.1.5 (phụ lục).

Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trên lộ trình nghiên cứu triển khai ứng dụng, để đưa được các kết quả nghiên cứu từ phòng thí nghiệm tới ứng dụng trong thực tiễn cần trải qua những giai đoạn nghiên cứu phát triển ở những mức độ và quy mô khác nhau, bắt đầu từ quy mô phòng thí nghiệm đến quy mô pilot và cuối cùng là quy mô công nghiệp.

3.1. NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CHẾ PHẨM HTD-CNSH-CF

Chế phẩm HTD-CNSH-CF được hình thành dựa trên: (1) ý tưởng về việc khai thác ứng dụng nguồn tài nguyên VSV bản địa phong phú của Tây Nguyên, cụ thể là nguồn VSV nội sinh trong cây cà phê. (2) Tác dụng đối với cây trồng (kích thích sinh trưởng, tăng sức đề kháng, diệt sâu bệnh hại, ...) của các VSV nội sinh. (3). Nhu cầu sử dụng các vật tư nông nghiệp theo hướng bền vững cho cây cà phê.

Quá trình phát triển công nghệ sản xuất chế phẩm HTD-CNSH-CF gồm 4 giai đoạn: (1). Tạo giống, (2). Bảo quản chủng giống, (3). Nhân giống, nhân sinh khối, (4). Thu hồi và tạo sản phẩm.

Kết quả thực hiện được tổng hợp dưới đây:

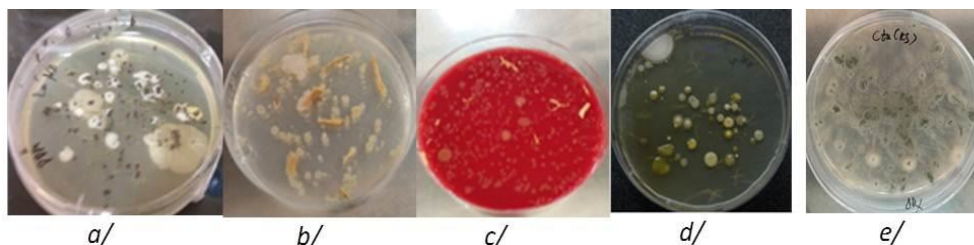
3.1.1. Kết quả nghiên cứu tạo giống và bảo quản chủng giống VSV

3.1.1.1. Phân lập và tuyển chọn các chủng VSV nội sinh chức năng từ cây cà phê

Thực hiện qua các bước:

Bước 1: Phân lập các chủng VSV nội sinh từ cây cà phê

Từ các mẫu thân, rễ và lá cây cà phê thu thập được tại các vườn Tây Nguyên tiến hành phân lập các chủng VSV nội sinh chức năng. Kết quả đã phân lập được 88 chủng VK, 52 chủng XK và 25 chủng nấm. Hình ảnh một số chủng VSV phân lập được thể hiện ở hình 3.0.1.



Hình 3.0.1. Một số hình ảnh các chủng đã mọc sau khi phân lập

Chú thích: a/ Các chủng ở mẫu lá trên môi trường LB; b/ Các chủng ở mẫu lá trên môi trường YIM; c/ Các chủng ở mẫu rễ trên môi trường YMA; d/Các chủng ở mẫu thân trên môi trường MT1; Các chủng ở mẫu thân trên môi trường PDA

Các chủng sau khi đã mọc trên các môi trường, tiến hành cấy khuẩn lạc riêng rẽ trên

môi trường LB. Dưới đây là bảng mô tả đặc điểm hình thái một số khuẩn lạc mọc riêng rẽ trên môi trường LB.

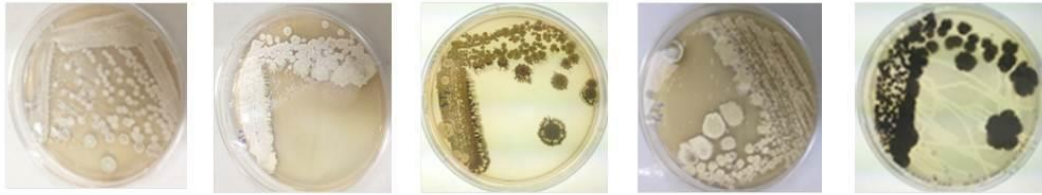
Bảng 3.0.1. Đặc điểm hình thái của một số chủng VSV nghiên cứu

Kí hiệu chủng	Nhóm VSV	Vị trí phân lập	Đặc điểm khuẩn lạc	Sắc tố
2R01	VK	Rễ	Tròn, hơi lồi, viền trong hình, bề mặt nhẵn	-
3R01	VK	Rễ	Hơi vàng, ướt nhầy, tròn, lồi, bóng, viền trong,	-
6R01	VK	Rễ	Vàng nhạt, tròn, phẳng, viền trong hơi nhẵn, bề mặt có chấm	-
11R01	VK	Rễ	Trắng ngà, tròn, lồi, viền trong, bề mặt bóng, ướt nhầy	-
12R01	VK	Rễ	Tròn, lõm, viền trắng rõ	-
17R01	VK	Rễ	Vô định hình, lõm, viền trắng dày	-
18R01	VK	Rễ	Vàng mờ, tròn, bóng, ướt nhầy, lồi, viền trong	-
16L12	VK	Lá	Trắng, tròn, lồi, viền trong hình răng cưa	-
2RM6-2	VK	Rễ	Vàng, tròn, ướt nhầy, bóng lồi, viền trong	-
22R01	VK	Rễ	Trắng, tròn, ướt nhầy, bóng lồi, viền trong	-
13R6	XK	Rễ	Trắng xám, tròn, lồi, viền trắng ngà, chia 2 khía, khô, nhiều vòng phóng xạ đồng tâm	Nâu nhạt
T6T6	XK	Thân	Xám, chóp lõm, viền trắng ngà lượn sóng, khô, có nhiều vòng phóng xạ, nhiều khía	Nâu đậm
5T7	XK	Thân	Tròn, nhiều vòng phóng xạ, viền trắng ngà, chia là 2 thùy bằng nhau, hơi lồi, khô. xen lẫn 2 dạng khuẩn lạc màu sắc khác nhau: trắng và nâu nhạt.	-
T7R11	XK	Rễ	Trắng ngà, tròn, chia nhiều khía, viền trắng, khô	Xanh rêu
T3T6	XK	Thân	Trắng, tròn, nhiều khía, chóp lõm, viền lượn sóng, khô	Nâu
1T11	XK	Thân	Trắng ngà, chóp lõm, nhiều khía, viền xám đục, khô, nhiều vòng phóng xạ	-
10T7	XK	Thân	Trắng, tròn, chóp lõm, viền trong dày, khô, nhiều vòng phóng xạ	-

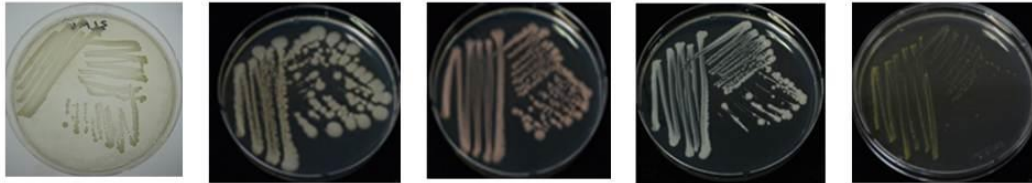
T5L6	XK	Lá	Trắng xám, tròn, chóp lõm, nhiều khía, khô, viền trắng ngà, nhiều khía	Nâu
4T7	XK	Thân	Xanh xám, tròn, chóp lõm trắng, viền trắng ngà, khô, nhiều khía, nhiều vòng phóng xạ	Vàng nâu
N18	Nấm	Thân	Tím, viền trắng	-
N35	Nấm	Lá	Tròn, xanh xám, viền trắng	-
7LM7	VK	Lá	Tròn, lồi, bóng, màu trắng đục	-
5LM7-1	VK	Lá	Tròn không đều, bóng, màu trắng vàng	-
4LM7-1	VK	Lá	Không định hình, phẳng, có viền trong, màu trắng vàng	-
2LM7-1	VK	Lá	Không định hình, phẳng, nhẵn, mép có răng cưa, màu trắng sữa	-
2LM7	VK	Lá	Không định hình, phẳng, khô, mép có răng cưa, trắng vàng	-
8LM7-1	VK	Lá	Không định hình, màu kem nhạt, có viền mờ	-
8LM7	VK	Lá	Không định hình, phẳng, khô, trắng vàng, có viền răng cưa	-
9RM7	VK	Rễ	Tròn không đều, trắng vàng, lồi, bóng, có tâm	-
9RM7-1	VK	Rễ	Tròn không đều, phẳng, có viền trong, màu trắng vàng	-
17RM7	VK	Rễ	Tròn không đều, lồi, bóng, viền trong, trắng vàng, có tâm	-
5RM7	VK	Rễ	Không định hình, trắng vàng, lồi có chứa khí căng, nhẵn, mép có răng cưa	-

Ghi chú: (-): không sinh sắc tố

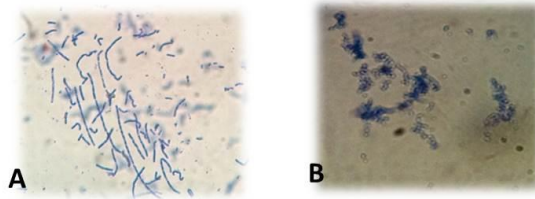
Qua bảng trên cho chúng ta thấy, đặc điểm hình thái nhóm VK, nhóm XK và nhóm nấm rất khác nhau. Sự khác nhau cơ bản giữa VK, XK và nấm: ở nhóm XK 1 số chủng có sinh sắc tố và khuẩn lạc khô xù xì, ở VK không sinh sắc tố và khuẩn lạc đa số là nhầy bóng, ở nấm có sinh bào tử. Trong đó các chủng 1L7, T3T6, T4L11, T5L6, T6T6 có khả năng sinh sắc tố mạnh, khuẩn ty cơ chất ăn sâu vào mặt thạch, có màu sắc khác với khuẩn ty khí sinh. Hình dạng tế bào cũng rất đa dạng.



Hình 3.0.2. Hình ảnh khuẩn lạc của 1 số chủng xạ khuẩn



Hình 3.0.3. Hình ảnh khuẩn lạc của 1 số chủng vi khuẩn



Hình 3.0.4. Tế bào VSV soi dưới vật kính (10X)

Chú thích: A. Tế bào VK KDL3R01 soi ở vật kính (x10); B. Sợi bào tử XK 4T7 soi ở vật kính (x10)

Bước 2: Tuyển chọn các chủng VSV nội sinh chức năng

a) Khảo sát hoạt tính enzyme chitinase và cellulase của các chủng VSV nội sinh

Các chủng VSV nghiên cứu hoạt độ enzyme bằng phương pháp đo đường khử. Kết quả bảng 3.0.2 cho ta thấy các chủng VSV được tuyển chọn đều có cả hoạt tính chitinase và cellulase rất tốt. Với nhóm VK thì chủng 11R01 có cả 2 hoạt tính enzyme cao nhất với kết quả hoạt độ enzyme chitinase là 1,53 và cellulase là 6 (U/ml).

Bảng 3.0.2. Hoạt tính enzyme chitinase và cellulase của 5 chủng vi khuẩn

Kí hiệu chủng VSV	3R01	4R01	11R01	12R01	18R01
Hoạt độ chitinase (U/ml)	0,95	1,1	1,53	1,18	1,13
Hoạt độ cellulase (U/ml)	0,11	2,98	6	1	5

Các chủng XK có hoạt tính chitinase tốt gồm T5L6, T6T6, T3T6, 1L7 và 13R6.

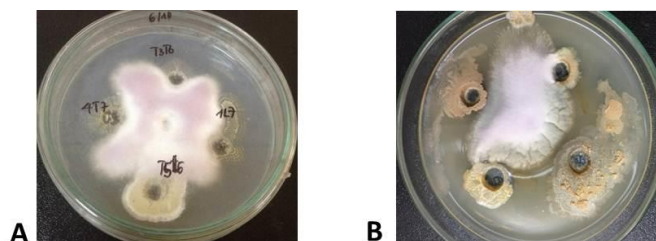
Trong đó chủng T5L6 có hoạt tính chitinase lên đến 21,5 (U/ml). Với hoạt tính cellulase, các chủng T6T6, 5T7, 1L11, T5L6, 10T7 và 1L7 có hoạt tính tốt trong đó chủng XK 10T7 có hoạt tính cao nhất là 12,61(U/ml).

Bảng 3.0.3. Hoạt tính enzyme chitinase và cellulase của 10 chủng xạ khuẩn

Kí hiệu chủng	13R6	T6T6	5T7	T7R11	T3T6	1L11	T5L6	10T7	1L7	T4L11
Hoạt độ chitinase (U/ml)	10,3	11,87	5,2	5,66	10,5	5,9	21,5	5,9	10,4	6
Hoạt độ cellulase (U/ml)	6,19	11,8	11,4	3,98	2,21	11,01	9,81	12,61	9,27	4,6

b) Kết quả kiểm tra khả năng đối kháng với nấm *Fusarium sp.*

Trong 30 chủng VSV nghiên cứu có chủng XK 4T7, VK KDL3R01 và chủng nấm N13 có khả năng đối kháng với nấm *Fusarium sp.*

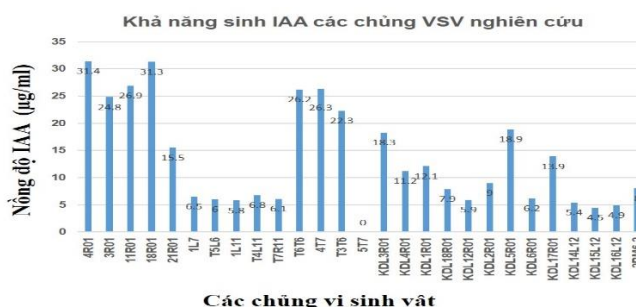


Hình 3.0.5. Khả năng đối kháng của VSV với nấm Fusarium sp.

Chú thích: A. Khả năng đối kháng của chủng XK 4T7 với nấm Fusarium sp., B. Khả năng đối kháng của chủng VK KDL3R01 với nấm Fusarium sp.

c) Kết quả định lượng IAA

Kết quả khảo sát khả năng tổng hợp IAA cho thấy cả 30 chủng vi sinh đều có khả năng tổng hợp IAA thể hiện ở biểu đồ hình 3.0.8.



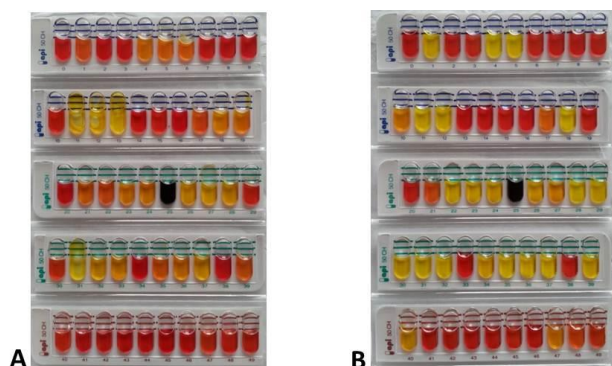
Hình 3.0.6. Nồng độ IAA của các chủng VSV nghiên cứu

Hình 3.0.8. cho thấy nồng độ IAA sinh tổng hợp bởi ở nhóm VK cao hơn nhóm XK và nấm, trong đó chủng VK 4R01 và 18R01 cao nhất lần lượt là 31,4 µg/ml và 31,3 µg/ml. Đối với XK, các chủng sinh IAA cao nhất là T6T6, 4T7 và T3T6 lần lượt là 26,2 µg/ml; 26,3 µg/ml và 22,3 µg/ml Sau đó là các chủng VK: KDL21R01 (13,5 µg/ml), KDL3R01(12,22 µg/ml), KDL6R01 (11,55 µg/ml), KDL11R01 (11,19 µg/ml).

3.1.1.2. Nghiên cứu phân loại một số chủng VSV nội sinh chức năng

a. Phân loại chủng VK mục tiêu bằng phương pháp hóa sinh

Kit chuẩn hóa sinh API 50 CHB dùng để phân loại VK Gram (+) thuộc giống VK *Bacillus* tương đối đặc hiệu.



Hình 3.0.7. Kết quả phân loại VSV sử dụng kit chuẩn CHB

Chú thích: a/ Chủng 11R01; b/ Chủng 18R01

Bảng 3.0.4. Khả năng sử dụng cơ chất theo kit API 50 CHB của chủng 11R01 và 18R01 so sánh với loài trong bảng Index của kit

STT	Cơ chất	So sánh chủng 11R01 với chủng chuẩn			So sánh chủng 18R01 với chủng chuẩn		
		24 h	48 h	<i>Bacillus subtilis</i>	24 h	48 h	<i>Bacillus magaterium</i>
0	Control	-	-	-	-	-	-
1	Glycerol	+	+	+	+	+	+
2	Erythritol	-	-	-	-	-	-
3	D-Arabinosa	-	-	-	+	+	+
4	L- Arabinosa	+	+	+	+	+	+
5	Riboza	+	+	+	+	+	+
6	D-Xyloza	+	+	+	+	-	+

7	L-Xyloza	-	-	-	-	-	-
8	Adonitol	-	-	-	-	-	-
9	β Methyl-xylosit	-	-	-	-	-	-
10	Galactoza	-	-	-	\pm	+	+
11	D-Glucoza	+	+	+	+	+	+
12	D-Fructoza	+	+	+	+	+	+
13	D-Mannoza	+	+	+	+	-	+
14	L-Sorboza	-	-	-	-	-	-
15	Rhamnoza	-	-	-	-	-	-
16	Dulcitol	-	-	-	-	-	-
17	Inositol	+	+	+	+	+	-
18	Mannitol	+	+	+	+	+	+
19	Sorbitol	+	+	+	+	-	+
20	α Methyl-D-mannosit	-	-	\pm	-	-	-
21	α Methyl-D-glucosit	+	+	+	+	+	+
22	N Acetyl glucosamin	+	+	+	+	+	+
23	Amygdalin	+	+	+	+	+	+
24	Arbutin	+	+	+	+	+	+
25	Esculin	+	+	+	+	+	+
26	Salicin	+	+	+	+	+	+
27	Cellobioza	+	+	+	+	+	+
28	Maltoza	+	+	+	+	+	+
29	Lactoza	-	-	-	+	+	+
30	Melibioza	-	+	-	+	+	-
31	Saccaroza	+	+	+	+	+	+
32	Trehaloza	+	+	+	+	+	+
33	Inulin	+	+	+	-	-	-
34	Melezitoza	-	-	-	-	+	-
35	D-Raffinoza	+	+	+	+	+	+
36	Amidon	+	+	+	+	+	+

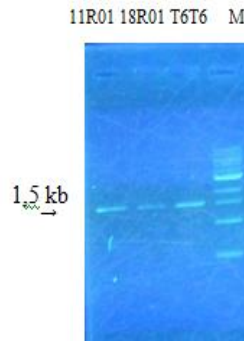
37	Glycogen	+	+	+	+	+	+
38	Xylitol	-	-	-	-	-	-
39	β Gentiobioza	+	+	+	+	+	+
40	D-Turanoza	+	+	+	-	+	-
41	D-Lyxoza	-	-	-	-	-	-
42	D-Tagatoza	-	-	-	-	-	-
43	D-Fucoza	-	-	-	-	-	-
44	L-Fucoza	-	-	-	-	-	-
45	D-Arabitol	-	-	-	-	-	-
46	L-Arabitol	-	-	-	-	-	-
47	Gluconat	+	+	+	-	+	+
48	2 ceto-gluconat	-	-	-	-	+	-
49	5 ceto-gluconat	-	-	-	-	+	+

Chú thích: -: không có phản ứng; +: có phản ứng; \pm : phản ứng yếu

Đôi chiếu kết quả này với API profile index, kết hợp với các đặc điểm hình thái theo khóa phân loại của Bergey's cho thấy mức độ xác định chủng 11R01 thuộc *Bacillus subtilis* (% ID = 88,5 và T = 0,96) và chủng 18R01 thuộc *Bacillus magaterium* (% ID = 90,9 và T = 0,76). Mặc dù vậy, để khẳng định chính xác đến loài ba chủng VK này được xác định tiếp bằng phương pháp sinh học phân tử, xác định trình tự gen 16S để khẳng định đến loài.

b. Phân loại các chủng VSV nghiên cứu dựa trên trình tự gen 16S rARN

Đối với VK và XK xác định trình tự gen 16S rARN là phương pháp đang được dùng phổ biến với độ chính xác cao. Gen này có mặt trong tất cả các tế bào, chứa vùng bảo thủ cao và vùng biến đổi cho phép phân biệt giữa các loài khác nhau. Tách chiết ADN tổng số là bước khởi đầu để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo hình 3.0.10 trình bày kết quả điện di sản phẩm PCR từ ADN tổng số của các chủng 11R01, 18R01 và T6T6 trên gel agarosa 0,8%. Trong quá trình tiến hành phản ứng, nhiệt độ điều chỉnh bắt cặp của đoạn môi, nồng độ các đoạn môi, MgCl₂, cũng như ADN genom khuôn cần phải hút với tỷ lệ chính xác nhất để phản ứng PCR xảy ra đặc hiệu nhất. Bằng kỹ thuật PCR sử dụng cặp môi 16F và 16R đã thu được gen mã hoá 16s rARN của ba chủng 11R01, 18R01 và T6T6. Kết quả điện di đồ cho thấy sản phẩm PCR thu được 1 băng đặc hiệu. Kích thước phân tử vào khoảng 1500 bp tương đương với tính toán lí thuyết



Hình 3.0.8. Điện di đồ sản phẩm PCR của ba chủng VK

Sản phẩm PCR sau tinh sạch được dùng trực tiếp để xác định trình tự nucleotit của gen 16S rARN. Sử dụng đoạn môi đã gắn huỳnh quang của bộ hoá chất chuẩn, phân tích trên máy xác định trình tự ADN tự động, xử lý bằng chương trình PC/GENE. Truy cập ngân hàng gen để tìm những loài đã đăng ký có trình tự tương đồng.

- *Trình tự gen 16S rARN của chủng VK 11R01*

```
GAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGCCCCGAGTAAAGCGTGGGTAACCTGCCT
GTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGTTTGAACCGCATGGTTCAAACATA
AAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACC
AAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTA
CGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAA
GGTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGT
ACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGG
AATTATGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGCTCAACCGGGGAG
GGTCATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTA
GAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAAGCGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCCGTG
GGGAGCGAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACACGATGAGTGCTAAGTGTGTTAGGGGGT
TTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTGCAGACTGAAACTC
AAAAGGAATTGACGGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGAAGAACC
TTACCAGTCTTGACATCCTCTGACAATCCTTAGAGATAGGGACGTCCCTTTCGGGGCAGAAGTGACCAGG
TGTGCA
```

Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. strain A3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1740	1740	99%	0.0	98%	KU904495.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus subtilis strain Bs10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1738	1738	100%	0.0	98%	MG847158.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus subtilis strain HB-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1738	1738	100%	0.0	98%	JQ518358.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus subtilis strain TLO3 chromosome, complete genome	1736	17196	100%	0.0	98%	CP023257.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus subtilis strain NCIB 3610, complete genome	1736	17231	100%	0.0	98%	CP020102.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus subtilis subsp. subtilis strain D12-5, complete genome	1736	17301	100%	0.0	98%	CP014858.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus subtilis subsp. natto strain DSM 2162, complete genome	1735	17105	100%	0.0	98%	CP014474.1

Hình 3.0.9. Trình tự gen 16S rRNA của chủng 11R01 trên GenBank

- *Trình tự gen 16S rARN của chủng VK 18R01*

```
TAATACATGCAAGTTCGAGCGAACTGATTAGAAGCTTGCTTCTATGACGTTAGCGGCGGACGGCCTGAGTAAC
ACGTGGGCAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGAAGCTAATACCGGATAGGATCTTCTCC
TTCATGGGAGATGATTGAAAGATGGTTTCGGCTATCACTTACAGATGGGCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGT
GAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGA
CACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAAC
GCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACAAGAGTAAGT
```


CTTGTACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGT
 GGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCA
 CGGCTCAACCGTGGAGGTCATTGGAAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATTCCACGTGT
 AGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTTTGGTCTGTAAGTACGCGTG
 AGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTA
 AGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTATGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCCTGGGGAGTACGGTCGCA
 AGACTG

Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Bacillus megaterium strain ICMP 20902 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1587	1587	100%	0.0	99%	MG786410.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus megaterium strain CDK25 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1587	1587	100%	0.0	99%	MG774438.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. strain DC B2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1587	1587	100%	0.0	99%	MG687381.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus megaterium strain CGAPGPBBS-034 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1587	1587	100%	0.0	99%	KY495205.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus megaterium strain LBUIM407 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1587	1587	100%	0.0	99%	MG461468.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus megaterium strain SF4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1587	1587	100%	0.0	99%	KY855376.1

Hình 3.0.10. Trình tự gen 16S rRNA của chủng 18R01 trên GenBank

Trình tự chủng T6T6:

CCACGGGGTTGGTGACCACCGGCTTCGGGTGTTACCGACTTTCGCTGACGTGACGGGCGGTGTGTACAAGG
 CCCGGAACGTATTCACCGCAGCAATGCTGATCTGCGACTACTAGCGACTCCGACTTCATGGGGTCGAGTTGCAGA
 CCCCAATCCGAACTGAGACCGGCTTTTTGAGATTGCTCCACCTCGCGGTATCGCAGCTCATTGTACCGCCATTGT
 AGCAGTGTGCAGCCAAGACATAAGGGGCATGATGACTTGACGTGCTCCACCTTCCTCCGAGTTGACCCCGGC
 GGTCTCCCGTGAGTCCCCAGCACCACAAGGGCCTGCTGGCAACACGGGACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTA
 ACCAACATCTCAGCAGCAGAGCTGACGACAGCATGCACCACCTGTACACCGACCACAAGGGGCGCCGTCTCC
 AGCGTTTCCGGTGTATGTCAGCCTTGTTAAGCTTCTTCGCGTTGCGTCAATTAAGCCACATGCTCCCGCTTG
 TGCGGGCCCCGTCGAATTCCTTTGAGTTTTAGCCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGGGACTTAATGCGTTAGCTGCGGC
 ACGGACAACGTGGAATGTTGCCACACCTAGTGCCACCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCT
 CCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTATCGGCCAGAGATCCGCCTTCGCCACCGGTGTTCTCCTGATATCTGCGCAT
 TTCACCGCTACACAGGAATTCGATCTCCCCTACCGAATCTAGCCCTGCCCGTATCGACTGCAGACCCGGGGTTAAAG
 CCCCAGGCTTTCACAACCGACGTGACAAGCCGCTACGAGCTCTTTACGCCAATAATTTCCGGGACAACGCTTTGCGCC
 CTACGTATTTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAAGCCGGCGCTTCTTCTGCAAGTACCGTCCACTTTCGCTTCTTCCCT
 GCTGAAAGAAGGTTTACAACCTCCGTAAGGACCGTTCAA

Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Streptomyces violascens strain HQA019 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1816	1816	99%	0.0	98%	KT758350.1
<input type="checkbox"/>	Streptomyces sp. strain K30 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1812	1812	99%	0.0	98%	KX674567.1
<input type="checkbox"/>	Streptomyces violascens strain KP070r 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1812	1812	99%	0.0	98%	KT200470.1
<input type="checkbox"/>	Streptomyces sp. JW1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1812	1812	99%	0.0	98%	EU906929.1
<input type="checkbox"/>	Streptomyces coelicolor strain USC043 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1808	1808	99%	0.0	98%	KX358966.1
<input type="checkbox"/>	Streptomyces purpurascens strain FR-5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1808	1808	99%	0.0	98%	KY753333.1
<input type="checkbox"/>	Streptomyces purpurascens strain ES-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1808	1808	99%	0.0	98%	KY849397.1

Hình 3.0.11. Trình tự gen 16S rRNA của chủng T6T6 trên GenBank

Kết quả giải trình tự sau khi xử lý bằng chương trình PC/GENE cho thấy trình tự gen 16S rRNA của chủng 11R01 đã được giải chính xác kích thước 1014 nucleotide, của chủng 18R01 là 869 nucleotide và của chủng T6T6 là 1053 nucleotide. Kết quả so sánh với tất cả trình tự trên ngân hàng gen và phần mềm Blast cho thấy: Chủng 11R01 có trình tự tương đồng 100% so với loài *Bacillus subtilis* (mã số: MG84758.1) (hình 3.0.11). Chủng 18R01 có trình tự tương đồng 100% so với loài *Bacillus megaterium* (mã số: MG774438.1) (hình 3.0.12). Chủng T6T6 có trình tự tương đồng 99% so với loài *Streptomyces violascens* (mã số: KT 758350.1) (hình 3.0.13).

Như vậy, kết hợp kết quả phân loại bằng phương pháp hoá sinh đã xác định chính xác chủng 11R01 là loài *Bacillus subtilis*, chủng 18R01 là loài *Bacillus mageterium*; chủng T6T6 thuộc chi *Streptomyces*.

3.1.1.3. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng của VSV

a. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên khả năng sinh trưởng

Khảo sát sự sinh trưởng của các chủng VSV nghiên cứu với các điều kiện nhiệt độ khác nhau để tìm ra nhiệt độ sinh trưởng thích hợp nhất, thu được kết quả như sau:

Bảng 3.0.5. Ảnh hưởng nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng vi khuẩn

Kí hiệu chủng Nhiệt độ	3R01	11R01	4R01	18R01	12R01
	24 °C	0,38	0,468	0,117	0,148
33 °C	0,509	0,559	0,502	0,214	0,276
37 °C	0,338	0,608	0,663	0,304	0,494
42 °C	0,21	0,43	0,4	0,19	0,38

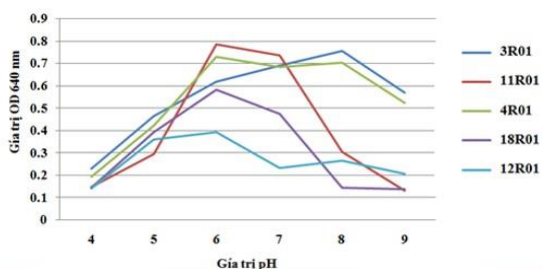
Từ kết quả trên ta thấy, nhiệt độ thích hợp để nhóm VK sinh trưởng là 37°C (chiếm 4/5 chủng VK nghiên cứu), đối với nhóm XK sinh trưởng tốt nhất là 33°C (chiếm 9/10 chủng XK được nghiên cứu).

Bảng 3.0.6. Ảnh hưởng nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng xạ khuẩn

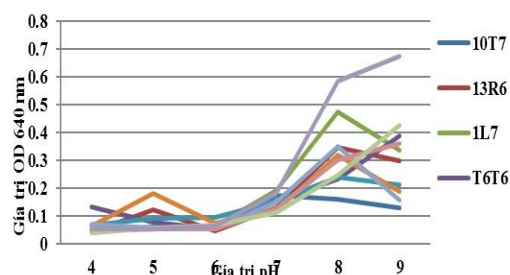
Kí hiệu chủng Nhiệt độ	10T7	13R6	1L7	T6T6	1L11	T4L11	T3T6	T7R11	T5L6	5T7
	24 °C	0,132	0,176	0,067	0,132	0,202	0,078	0,195	0,136	0,062
33 °C	0,239	0,329	0,208	0,233	0,202	0,209	0,215	0,147	0,181	0,203
37 °C	0,048	0,186	0,052	0,048	0,075	0,212	0,05	0,048	0,058	0,047
42 °C	0,019	0,125	0,04	0,032	0,058	0,128	0,039	0,03	0,041	0,032

b. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng

Các chủng VSV tăng trưởng phù hợp với một khoảng pH xác định. Để khảo sát pH thích hợp cho sự sinh trưởng của 15 chủng tiến hành nuôi cấy trong những môi trường có pH khác nhau và thu được kết quả như sau:



Hình 3.0.12. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng của xạ khuẩn



Hình 3.0.13. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng của vi khuẩn

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng của các chủng VSV cho ta thấy: Các chủng vi sinh được nghiên cứu hầu hết sinh trưởng phát triển tốt trong khoảng pH từ 6 đến 8. Nhóm VK có khả năng sinh trưởng chủ yếu ở pH= 6 – 7, nhóm XK pH = 7 – 8.

c. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến khả năng sinh trưởng

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến khả năng sinh trưởng của các chủng VSV cho ta thấy: Nồng độ NaCl thích hợp: 3 - 5%. Trong đó có chủng 1L7 sinh trưởng tốt ở nồng độ 8%.

Bảng 3.0.7. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến khả năng sinh trưởng VSV

Kí hiệu chủng	Nồng độ NaCl/ Khả năng sinh trưởng (OD _{640nm})								
	1%	2%	3%	4%	5%	6%	7%	8%	9%
3R01	0,452	0,472	0,530	0,542	0,544	0,538	0,477	0,407	0,4
11R01	0,436	0,518	0,84	0,586	0,56	0,552	0,514	0,507	0,466
4R01	0,556	0,524	0,6	0,65	0,7	0,715	0,702	0,67	0,604
18R01	0,179	0,18	0,257	0,35	0,409	0,178	0,163	0,118	0,112
12R01	0,202	0,244	0,712	0,826	0,307	0,292	0,288	0,27	0,256
10T7	0,133	0,185	0,206	0,3	0,228	0,209	0,163	0,113	0,091

13R6	0,114	0,194	0,198	0,203	0,204	0,232	0,308	0,277	0,255
1L7	0,228	0,238	0,245	0,25	0,258	0,259	0,36	0,686	0,206
T6T6	0,129	0,134	0,161	0,189	0,275	0,286	0,209	0,147	0,123
1L11	0,212	0,246	0,324	0,32	0,137	0,126	0,119	0,1	0,109
T4L11	0,097	0,131	0,263	0,254	0,253	0,252	0,233	0,165	0,145
T3T6	0,353	0,264	0,239	0,229	0,22	0,154	0,133	0,123	0,109
T7R11	0,121	0,141	0,202	0,213	0,2	0,234	0,211	0,155	0,115
T5L6	0,094	0,116	0,229	0,211	0,189	0,126	0,121	0,11	0,09
5T7	0,212	0,219	0,22	0,23	0,224	0,401	0,366	0,271	0,185

Bảng 3.0.8. Kết quả tuyển chọn chủng VSV nội sinh chức năng

STT	VSV	Đặc điểm khuẩn lạc	Hoạt tính
1.	VK <i>Bacillus subtilis</i> 11R01	Trắng ngà, tròn, lồi, viền trong, bề mặt bóng, ướt nhầy	chitinase và cellulase, IAA
2.	VK <i>Bacillus mageterium</i> 18R01	Vàng mờ, tròn, bóng, ướt nhầy, lồi, viền trong	chitinase và cellulase, IAA
3.	XK <i>Streptomyces violascens</i> T6T6	Xám, chóp lõm, viền trắng ngà lượn sóng, khô, có nhiều vòng phóng xạ, nhiều khía	IAA
4.	XK <i>Streptomyces</i> sp. T3T6	Trắng, tròn, nhiều khía, chóp lõm, viền lượn sóng, khô	IAA
5.	XK <i>Streptomyces</i> sp. 4T7	Xanh xám, tròn, chóp lõm trắng, viền trắng ngà, khô, nhiều khía, nhiều vòng phóng xạ	đổi kháng với nấm <i>Fusarium</i> sp., IAA

05 chủng VSV tuyển chọn được bảo quản tại bảo tàng VSV – viện Công nghệ sinh học, viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam để sử dụng làm bộ chủng giống chế tạo chế phẩm HTD-CNSH-CF

3.1.2. Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống, thu hồi và tạo sản phẩm

3.1.2.1. Nghiên cứu quy trình nhân giống, nhân sinh khối tạo chế phẩm HTD-CNSH-CF quy mô PTN

a. Chuẩn bị nguyên vật liệu:

* Chủng giống VSV:

Các chủng VSV được sử dụng trong sản xuất chế phẩm VSV HTD-CNSH-CF bao gồm các chủng VSV có khả năng chuyển hóa hợp chất hữu cơ giàu cacbon, kích thích sinh trưởng thực vật và kháng nấm gây bệnh. Tổ hợp nhóm VSV sử dụng trong sản xuất như sau: *Bacillus megaterium* 18R01, *Streptomyces* sp. 4T7

* Lựa chọn cơ chất: môi trường xốp (than bùn, cám trấu, chất dinh dưỡng, vi lượng);

b. Nhân giống chủng VSV trên môi trường dịch thể;

c. Phối trộn chế phẩm theo tỷ lệ 1%;

d. Nuôi ủ ở nhiệt độ 25 – 37 °C;

e. Kiểm tra chất lượng và bảo quản sản phẩm

Trong quá trình sử dụng các chủng VSV, việc đánh giá chất lượng các chủng VSV luôn đòi hỏi là một khâu chính của quy trình. Hoạt tính sinh học của các chủng VSV sử dụng được đánh giá theo các phương pháp thí nghiệm thường quy đã được chuẩn hóa trong phòng thí nghiệm.

Mô tả quy trình

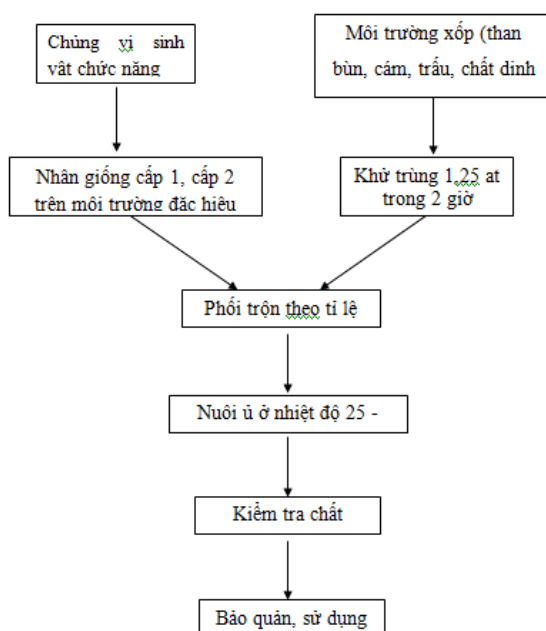
Bước 1: Nhân sinh khối VSV

Chuẩn bị các môi trường dịch thể được khử trùng ở 121°C, kéo dài 30 phút. Các chủng VSV hữu ích từ môi trường thạch nghiêng được nhân giống trên môi trường dịch thể tương ứng (LB) cho chủng *Bacillus megaterium*, Gauze cho chủng *Streptomyces* sp.) bằng nuôi lắc 200 vòng/ phút ở 30°C kéo dài 3 ngày.

Sinh khối VSV được nhân theo 2 cấp:

Lên men cấp 1: VSV được pha chế theo các thành phần đã cho, phân vào các bình tam giác và khử trùng ở 121°C trong 20 phút. Sau khi khử trùng môi trường được để nguội đến 25°C ÷ 37°C và cấy VSV từ các ống giống gốc. Thao tác này được thực hiện trong điều kiện vô trùng. Nuôi VSV ở điều kiện nhiệt độ và thời gian thích hợp với từng loại VSV.

Nhân sinh khối cấp 2: Sinh khối VSV từ lên men cấp 1 được chuyển sang các bình tam giác có thể tích lớn hơn có chứa môi trường nhân sinh khối đã khử trùng. Nuôi VSV ở trên các thiết bị lên men với các thông số kỹ thuật phù hợp. Nhân giống chủng ở các điều kiện.



Hình 3.0.14. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm

Bảng 3.0.9. Môi trường và thời gian lên men cấp 1 và cấp 2 các chủng VSV

Tên VSV	Môi trường lên men cấp 1	Môi trường lên men cấp 2	Thời gian lên men (giờ)
<i>Streptomyces</i> sp.	Gauze	YIM 38	72
<i>Bacillus megaterium</i>	MPA	LB	48

Bảng 3.0.10. Thông số kỹ thuật thích hợp cho quá trình nhân sinh khối cấp 2

Thông số kỹ thuật	Chủng VSV	
	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Bacillus megaterium</i>
pH	7,5	6,5
Nhiệt độ lên men (°C)	28±2	35±2
Thời gian nhân sinh khối (giờ)	72	36
Tỷ lệ giống gốc (%)	3	3
Môi trường nhân sinh khối	YIM38	LB

Bước 2: Chuẩn bị chất mang

Chất mang chính sử dụng trong qui trình sản xuất này là bột ngô, sử dụng vôi bột để điều chỉnh nguyên liệu về pH trung tính và khử trùng bằng hơi nóng khô ở 1,25 at trong 2 giờ.

Bước 3: Phối trộn

Nguyên liệu bột ngô sau khi khử trùng được trộn đều với ri đường và cám theo đúng định mức bằng thiết bị trộn. Hiệu lực của chế phẩm phụ thuộc vào mật độ và mức độ tương

hỗ của các chủng VSV trong hỗn hợp. Để đảm bảo chất lượng theo yêu cầu trên cơ sở phù hợp về số lượng các nhóm VSV trong chế phẩm cần tính toán sao cho tỷ lệ các chủng vi sinh trong hỗn hợp theo tỷ lệ VSV/chất mang là 1/100.

Bước 4: Xử lý tạo chế phẩm VSV

Hỗn hợp sau phối trộn được đưa vào hệ thống sấy ở nhiệt độ thấp (không vượt quá 40°C) để tiếp tục loại bỏ nước tự do. Độ ẩm cuối cùng của sản phẩm cần đạt 20-25%.

Bước 5: Kiểm tra chất lượng

Sản phẩm cuối cùng của qui trình sản xuất cũng như các sản phẩm tạo ra trong từng công đoạn của qui trình đều phải được kiểm tra đánh giá chất lượng về các chỉ tiêu mật độ VSV lựa chọn và mức độ tạp nhiễm.

Bảng 3.0.11. Kết quả kiểm tra chất lượng

Nhóm VSV	Mật độ VSV (CFU/g) sau thời gian bảo quản			
	1 tháng	3 tháng	6 tháng	Hoạt tính sinh học sau 6 tháng bảo quản (đường kính vòng phân giải = D-d)
Phân giải cellulose, tinh bột, chitin	$\geq 10^8$	$\geq 10^8$	$\geq 10^7$	22 mm
Tiết chất kích thích sinh trưởng IAA	$\geq 10^8$	$\geq 10^8$	$\geq 10^7$	21 mg/l
Nhóm VSV	Mật độ VSV (CFU/g rễ cà phê) sau thời gian bổ sung chế phẩm			
	1 tháng	3 tháng	6 tháng	Hoạt tính sinh học sau 6 tháng bổ sung (đường kính vòng phân giải= D-d)
Phân giải cellulose, tinh bột, chitin	26	68	108	19 mm
Tiết chất kích thích sinh trưởng IAA	16	55	89	18 mg/l

Bước 6: Bảo quản sản phẩm

Sản phẩm sau lên men được đóng vào các túi polyetylen với trọng lượng 1-2 kg. Bảo quản nơi khô, mát, tránh ánh sáng mặt trời và trong tối ở nhiệt độ phòng cho đến khi sử dụng, thời gian sử dụng trong vòng 6 tháng kể từ ngày sản xuất.

3.1.2.2. Sản xuất 50 lít chế phẩm: đã sản xuất 50 lít chế phẩm HTD-CNSH-CF để phục vụ các nghiên cứu đánh giá tác dụng

3.1.3. Đánh giá tác dụng chế phẩm HTD-CNSH-CF trên cây cà phê

3.1.3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của chế phẩm HTD-CNSH-CF đến sinh trưởng của cây cà phê (mô hình thí nghiệm thực hiện trong nhà lưới)

a) Ảnh hưởng của chế phẩm HTD-CNSH-CF đến chiều cao thân và số cặp lá mới mọc/cành của cây cà phê trong mô hình thí nghiệm

* Kết quả về sinh trưởng của cây cà phê trong tháng đầu tiên sau khi lây nhiễm VSV nội sinh:

Để đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm VSV nội sinh HTD-CNSH-CF đến sinh trưởng và phát triển của cây cà phê trồng trong nhà lưới tiến hành theo dõi các chỉ số như chiều cao cây và số cặp lá mới mọc/cành ra của các cây cà phê trong các công thức thí nghiệm, kết quả thu được trình bày ở bảng 3.0.11 như sau:

Bảng 3.0.12. Chiều cao và số cặp lá của cây cà phê sau 1 tháng lây nhiễm chế phẩm vi sinh nội sinh HTD-CNSH-CF

Thời gian	Chiều cao thân (cm)			Số cặp lá		
	ĐC	TN1	TN2	ĐC	TN1	TN2
0 ngày	1,3	1,28	1,2	2,2	2,2	2,2
7 ngày	1,3	1,38	1,35	2,6	2,8	3,1
14 ngày	1,3	1,39	1,37	3,2	3,4	3,4
21 ngày	1,3	1,42	1,5	3,3	3,5	3,6
28 ngày	1,5	2,03	1,7	3,5	3,78	3,81

Ghi chú: - ĐC: Công thức đối chứng: Cây cà phê không được lây nhiễm VSV nội sinh trồng trên đất, không bổ sung phân bón; TN1: Công thức thí nghiệm 1: Cây cà phê không được lây nhiễm VSV nội sinh trồng trên đất, bổ sung phân bón theo hướng dẫn BNN&PTNT; TN2: Công thức thí nghiệm 2: Cây cà phê được lây nhiễm VSV nội sinh in vitro (20 ngày tuổi) bằng cách nuôi cây các cà phê này trên môi trường thủy canh có bổ sung chế phẩm VSV HTD - CNSH- CF với nồng độ 1% trong 28 ngày. Sau 28 ngày kiểm tra những cây cà phê nào có nồng độ VSV nội sinh đạt 10^2 thì được lựa chọn để trồng, trong thí nghiệm này không được bón phân hóa học mà sử dụng chế phẩm VSV HTD-CNSH-CF với nồng độ 1g/100g đất và phun bổ sung chế phẩm VSV nội sinh HTD-CNSH-CF với nồng độ 1% trong 28 ngày, cách phun ướt đẫm lá cây cà phê.

Kết quả bảng 3.0.11 cho thấy: Chiều cao thân ở công thức thí nghiệm 1 và 2 luôn cao hơn công thức đối chứng qua các ngày theo dõi; Số cặp lá mới mọc/cành ở công thức thí nghiệm 1 và 2 luôn cao hơn công thức đối chứng qua các ngày theo dõi; Màu sắc lá: ở công

thức thí nghiệm 2 cây cà phê có lá xanh, bóng và mượt hơn so với công thức thí nghiệm 1 và công thức đối chứng.



Hình 3.0.15. Hình ảnh cây cà phê ở công thức ĐC, TN1 và TN2 sau 28 ngày lây nhiễm

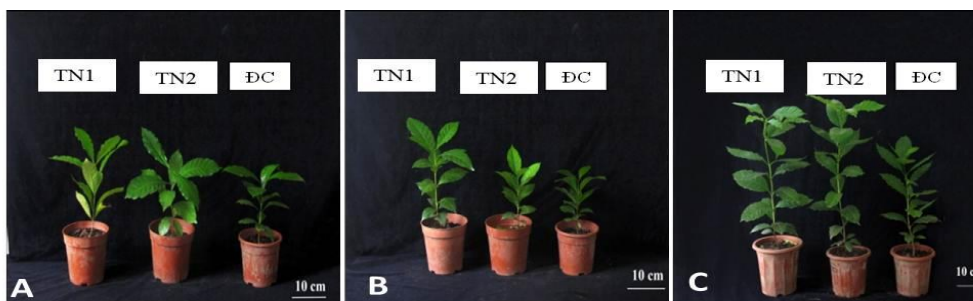
* Kết quả về sinh trưởng của cây cà phê sau 3, 6 và 9 tháng theo dõi

Các kết quả thu được trình bày tại bảng 3.0.12 như sau:

Bảng 3.0.13. Sinh trưởng của cây cà phê tại vườn ươm sau 3, 6, 9 tháng theo dõi

Thời gian	Chiều cao thân (cm)			Số lá (cặp)		
	Đối chứng	TN1	TN2	Đối chứng	TN1	TN2
3 tháng	39,2	40,5	43.1	4,6	4,88	4,94
6 tháng	40,1	42,5	48,2	5,1	5,43	5.51
9 tháng	49,7	61,3	62.4	6,2	7,4	7.8

Kết quả cho thấy: Chiều dài thân ở công thức thí nghiệm 1 và 2 luôn cao hơn công thức đối chứng qua các tháng theo dõi. Số cặp lá trong các công thức thí nghiệm 1 và 2 tăng sinh nhiều hơn so với công thức đối chứng. Số cặp lá triển nhanh nhất ở thời điểm từ 6 đến 9 tháng ở thí nghiệm 1 và 2 trong khi đối chứng gần như không phát triển mà chỉ bắt đầu phát triển chậm lại. Như vậy, cây hấp thu dinh dưỡng cũng như phát triển khỏe nhanh hơn trong các giai đoạn phát triển về sau.



Hình 3.0.16. Sinh trưởng cây cà phê trong thí nghiệm

Chú thích: A. Hình ảnh cây cà phê ở công thức Đối chứng và TN1 sau 14 ngày lây nhiễm; B. Hình ảnh cây cà phê ở công thức Đối chứng và TN2 sau 14 ngày lây nhiễm; C. Hình ảnh cây cà phê ở công thức Đối chứng, TN1 và TN2 sau 28 ngày lây nhiễm.

b) Ảnh hưởng của chế phẩm HTD-CNSH-CF đến chiều dài rễ chính và số rễ nhánh của cây cà phê trong mô hình thí nghiệm

Tiến hành theo dõi số rễ nhánh và chiều dài rễ chính của các cây cà phê ở các thí nghiệm nghiên cứu, quả được trình bày ở bảng 3.0.13.

Bảng 3.0.14. Theo dõi sinh trưởng về chiều dài rễ chính và số rễ nhánh của cây cà phê 20 ngày tuổi sau lây nhiễm

Thời gian	Số rễ nhánh			Chiều dài rễ chính (cm)		
	ĐC	TN1	TN2	ĐC	TN1	TN2
0 ngày	2	3	2,3	3,5	4,3	3,9
7 ngày	2	3	4,5	3,6	4,5	4,2
14 ngày	2	3,1	4,5	3,6	4,6	4,5
21 ngày	2,3	3,4	5,1	3,8	4,8	5,2
28 ngày	2,6	4,3	5,1	3,9	5,5	6,3

Kết quả bảng 3.0.13 cho thấy: chiều dài rễ chính ở công thức thí nghiệm 1 và 2 luôn cao hơn công thức đối chứng qua các ngày theo dõi. Số rễ phụ công thức thí nghiệm 1 và 2 tăng sinh nhiều hơn so với công thức đối chứng. Số rễ phát triển nhanh nhất ở thời điểm từ 0 đến 7 ngày ở thí nghiệm 1 và 2 trong khi đối chứng gần như không phát triển mà chỉ bắt đầu phát triển chậm sau 14 ngày. Điều này giúp cho cây hấp thu dinh dưỡng cũng như phát triển khỏe nhanh hơn trong các giai đoạn phát triển về sau.

Các chế phẩm VSV đa chức năng đã được thử nghiệm lên cây cà phê, cà phê và cà phê trong điều kiện chậu vại cho kết quả khả quan, cây ở lô thí nghiệm sinh trưởng và phát triển tốt, lá đều xanh, to bản, cứng cây hơn so với đối chứng. Chiều cao và khối lượng cây trung bình của các loại cây ở lô thí nghiệm cao hơn lô đối chứng và tỷ lệ cây sống cũng cao hơn ở lô thí nghiệm.

3.2. HOÀN THIỆN CÔNG NGHỆ SẢN SUẤT CHẾ PHẨM CAFE HTD-01

3.2.1. Tình trạng kỹ thuật của chế phẩm trước hoàn thiện

Chế phẩm được hình thành ở quy mô PTN từ đề tài mã số TN3/C01 giai đoạn 2013-2015 với tình trạng công nghệ được tổng kết trong bảng 3.1. Trong các giai đoạn công nghệ bao gồm: (1) Tạo giống, (2) Bảo quản chủng giống, (3) Nhân giống và nhân sinh khối, (4) Thu hồi và tạo sản phẩm thì các giai đoạn (3) và (4) sẽ cần hoàn thiện khi nâng cấp chế phẩm từ quy mô PTN lên quy mô pilot.

Bảng 3.1.1. Tình trạng kỹ thuật trước hoàn thiện của chế phẩm CAFE HTD-01

STT	Giai đoạn công nghệ	Tình trạng công nghệ		
		Phòng thí nghiệm (PTN)	Quy mô pilot (PL)	Quy mô công nghiệp (CN)
			CAFE HTD-01, HOTIEU HTD-03	
1.	Tạo giống	Đã có	Đã có	-
2.	Bảo quản chủng giống	Đã có	Đã có	-
3.	Nhân giống, nhân sinh khối	Cần nâng cấp lên quy mô PL	-	-
4.	Thu hồi và tạo sản phẩm	Cần nâng cấp lên quy mô PL	-	-

3.2.2. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất, nâng cấp từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô pilot

3.2.2.1. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân giống, nhân sinh khối tạo chế phẩm CAFE HTD-01 quy mô pilot

Để hoàn thiện quy trình nhân giống các VSV thành phần của chế phẩm CAFE HTD-01 tiến hành hoàn thiện các bước sau:

Bước 1. Xác lập môi trường nuôi cấy phù hợp cho quá trình nhân giống các chủng VSV chức năng

Để lựa chọn môi trường quá trình nhân giống các chủng VSV chức năng cho cây cà phê, tiến hành đánh giá ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy khác nhau (Bảng 3.1.2) lên khả năng sinh trưởng và các hoạt tính chức năng của từng chủng (hoạt tính cố định đạm, hoạt tính phân giải lân, hoạt tính sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật).

Bảng 3.1.2. Kết quả đánh giá sinh trưởng và sự thay đổi hoạt tính của các chủng VSV khi được nuôi trên các môi trường khác nhau

Chủng A. <i>chroococcum</i> Ab-CF7.2					
Sinh trưởng (OD ~ 620 nm)		Hàm lượng NH ₄ ⁺ (µM/mg khối lượng khô tế bào)		Hàm lượng AIA thô (mg/l)	
MT1	MT2	MT1	MT2	MT1	MT2
3,2	3	127,5	122,3	28,2	12,4
Chủng Ac. <i>diazotrophicus</i> Ac-CF 2.2					
Sinh trưởng (OD ~ 620 nm)		Hàm lượng NH ₄ ⁺ (µM/mg khối lượng khô tế bào)		Hàm lượng AIA thô (mg/l)	

MT3	MT4	MT3	MT4	MT3	MT4
2,7	3	127,5	122,3	25,2	14,4
Chủng <i>Azospirillum brasilense</i> As-CF 1.5					
Sinh trưởng (OD ~ 620 nm)			Hàm lượng NH₄⁺ (μM/mg khối lượng khô tế bào)		
MT5	MT6		MT5	MT6	
2,5	2,9		115,5	120,5	
Chủng <i>B. subtilis</i> VL-CF 7.3					
Sinh trưởng (OD ~ 620 nm)			Hàm lượng P tan (mg/l)		
MT7	MT8	MT9	MT7	MT8	MT9
3,2	3,4	3,5	550	502	665
Chủng mốc <i>Aspergillus tubingensis</i> ML-CF1.3					
Sinh trưởng - khối lượng khô tế bào (g/50 ml dịch nuôi)			Hàm lượng P tan (mg/l)		
MT13	MT14	MT15	MT13	MT14	MT15
2,2	2,4	2,5	675	815	720

Kết quả đánh giá thể hiện ở bảng 3.1.2. cho thấy, môi trường **MT1** là tốt nhất cho sinh trưởng, sinh hoạt tính cố định đạm và kích thích sinh trưởng thực vật của chủng VK *A. chroococcum* Ab-CF7.2. Môi trường **MT3** là tốt nhất cho sinh trưởng, sinh hoạt tính cố định đạm và kích thích sinh trưởng thực vật của chủng VK *Ac. diazotrophicus* Ac-CF 2.2. Môi trường **MT6** là tốt nhất cho sinh trưởng và sinh hoạt tính cố định đạm của chủng VK *Az. brasilense* As-CF 1.5. Môi trường **MT9** là tốt nhất cho sinh trưởng và sinh hoạt tính phân giải lân của chủng VK *B. subtilis* VL-CF 7.3. Môi trường **MT14** Czapek Dox là tốt nhất cho sinh trưởng và sinh hoạt tính phân giải lân của chủng mốc *A.tubingensis* ML-CF1.3.

Bước 2. Hoàn thiện quy trình nhân giống trong nồi lên men xốp các chủng VSV chức năng cây cà phê (thể tích nồi lên men 14 lít, 80 lít, 150 lít)

Trong nghiên cứu này, các điều kiện khảo sát đã được thực hiện nhằm tối ưu quá trình lên men xốp bao gồm:

(1) Lựa chọn tỷ lệ giống cấy thích hợp

Trong thí nghiệm này, tỷ lệ cấp giống vào các thiết bị lên men 14, 80 và 150 lít thay đổi là 1, 3, 5, 7%. Theo kết quả nghiên cứu thu được, tỷ lệ cấp giống ban đầu thích hợp nhất cho cả 3 chủng VK và 1 chủng nấm mốc lên men ở quy mô sản xuất chế phẩm trong cả 3 nồi lên men là ở 5%. Với tỷ lệ giống cấy lớn hơn hoặc nhỏ hơn, mật độ VSV trong môi trường xộp đều giảm. Riêng VK *Azospirillum* thích hợp nhất ở tỉ lệ cấy giống 4% (bảng 3.1.3)

Bảng 3.1.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ giống cấy lên mật độ VSV trong các nồi lên men xộp (CFU/g khối lượng khô)

Kích thước nồi LM (lít)	Mật độ VSV trong chế phẩm (x 10 ⁹ CFU/g)											
	14				80				150			
Tỉ lệ giống (%)	1	3	5	7	1	3	5	7	1	3	5	7
<i>Azotobacter</i>	0.35	1.1	1.25	1.2	0.5	1.2	1.45	1.1	1.15	1.1	1.15	0.85
<i>Azospirillum</i>	1.3	5.5	3.5	3.5	1.5	4.9	4.75	4.1	1.5	4.1	4.5	3.2
<i>Acetobacter</i>	0.85	2.75	3.1	3.2	1.75	3.25	3.45	1.7	1.1	2.7	3.6	3.5
VK PGL	1.9	4.5	5.6	5.5	2.5	6.5	5.5	4.2	2.6	3.2	4.5	3.2
NM PGL	0.9	0.95	0.95	0.8	0.8	0.9	1.00	0.85	0.76	0.85	0.95	0.85

Chú thích: VK PGL: VK phân giải lân; NM PGL: nấm mốc phân giải lân;

(2). Lựa chọn thời gian lên men

Thời gian lên men thích hợp nhất cho cả 5 chủng VSV lên men trong cả 3 nồi lên men là ở 3 ngày. Với thời gian lên men ngắn hơn hoặc lâu hơn, mật độ VSV trong môi trường xộp đều giảm (Bảng 3.1.4)

Bảng 3.1.4. Ảnh hưởng của thời gian lên men lên mật độ VSV trong các nồi lên men xộp

Kích thước nồi lên men (lít)	Mật độ VSV trong chế phẩm (x 10 ⁹ CFU/g)											
	14				80				150			
Thời gian (ngày)	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<i>Azotobacter</i>	0.55	1.15	1.75	1.28	0.58	1.25	1.75	1.5	1.25	1.4	1.55	0.85
<i>Azospirillum</i>	1.5	3.3	3.25	3.45	1.85	3.9	4.2	4.15	1.35	4.4	4.75	3.25
<i>Acetobacter</i>	0.95	2.25	3.15	2.75	1.95	3.55	3.2	1.95	1.5	2.25	3.8	3.75
VK PGL	1.75	4.5	5.1	5.05	2.15	4.5	5.5	4.6	2.95	4.2	5.5	3.25
NM PGL	0.85	0.85	0.95	0.9	0.9	0.95	1.45	0.95	0.86	0.95	1.15	0.95

Chú thích: VK PGL: VK phân giải lân; NM PGL: nấm mốc phân giải lân;

(3) Lựa chọn độ ẩm thích hợp

Tiến hành bổ sung nước vào giá thể theo tỉ lệ để đạt các độ ẩm khác nhau. Sau khi lên men trong các thiết bị khác nhau, kết quả đánh giá ảnh hưởng của độ ẩm giá thể lên sinh

trường của các chủng VSV bổ sung vào môi trường xốp cho thấy: Mật độ của cả 6 chủng VSV đều đạt cao nhất trong các thiết bị lên xốp ở độ ẩm 55%. Ở độ ẩm cao hơn hoặc thấp hơn mật độ VSV đều giảm (bảng 3.1.5)

Bảng 3.1.5. Ảnh hưởng của độ ẩm môi trường giá thể lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp (CFU/g khối lượng khô)

Kích thước nôi LM (lít)	Mật độ VSV trong chế phẩm (x 10 ⁹ CFU/g)											
	14				80				150			
Độ ẩm (%)	45	50	55	60	45	50	55	60	45	50	55	60
<i>Azotobacter</i>	0.7	1.12	1.35	1.05	0.85	1.2	1.3	1.15	1.05	1.15	1.25	0.95
<i>Azospirillum</i>	3.65	3.95	4.5	3.5	1.25	3.9	4.25	4.1	2.5	3.1	4.52	3.2
<i>Acetobacter</i>	0.85	2.75	3.15	3.0	1.95	2.25	3.45	1.95	1.75	2.55	3.2	3.05
VK PGL	2.15	3.5	4.6	3.5	2.05	4.5	5.05	4.2	2.85	3.2	4.5	3.25
NM PGL	0.95	1.05	1.25	0.95	0.85	0.95	1.2	0.85	0.96	1.05	1.25	0.95

Chú thích: VK PGL: VK phân giải lân; NM PGL: nấm mốc phân giải lân;

(4). Lựa chọn độ thông khí

Bảng 3.1.6. Ảnh hưởng của độ thông khí lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp (CFU/g khối lượng khô)

Kích thước nôi LM (lít)	Mật độ VSV trong chế phẩm (x 10 ⁹ CFU/g)											
	14				80				150			
Độ thông khí (giờ/ lần)	6	12	18	24	6	12	18	24	6	12	18	24
<i>Azotobacter</i>	0.9	1.4	1.1	1.05	1.15	1.55	1.25	1.15	1.25	1.3	1.15	1.05
<i>Azospirillum</i>	2.45	3.65	2.18	2.25	3.5	4.45	3.25	2.8	2.75	3.5	2.9	2.25
<i>Acetobacter</i>	2.25	3.5	2.5	2.22	2.75	3.45	2.85	1.95	2.25	4.25	3.8	2.8
VK PGL	3.75	4.1	3.5	2.85	3.45	4.8	3.45	3.5	3.15	4.05	3.75	3.5
NM PGL	0.95	1.25	1.15	0.95	0.9	1.2	1.05	0.95	0.85	1.19	0.95	0.85

Chú thích: VK PGL: VK phân giải lân; NM PGL: nấm mốc phân giải lân;

Độ thông khí thích hợp nhất cho cả 4 chủng VK và 1 chủng nấm mốc lên men trong cả 3 nôi lên men là 12 giờ đảo trộn/lần. Ở mức độ đảo trộn 6, 18, 24 giờ/lần mật độ VSV giảm hẳn (Bảng 3.1.6)

(5). Lựa chọn nhiệt độ môi trường

Bảng 3.1.7. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men lên mật độ VSV trong các nồi lên men xốp (CFU/g khối lượng khô)

Kích thước nồi LM (lít)	Mật độ VSV trong chế phẩm (x 10 ⁹ CFU/g)											
	14				80				150			
Nhiệt độ (°C)	25	30	35	40	25	30	35	40	25	30	35	40
<i>Azotobacter</i>	0.75	1.75	1.35	1.15	0.85	1.3	1.15	1.05	1.05	1.15	1.25	0.95
<i>Azospirillum</i>	3.25	3.95	3.5	3.25	2.25	3.9	2.25	2.1	2.15	3.1	2.52	2.2
<i>Acetobacter</i>	0.85	2.75	2.15	2.0	1.95	2.25	1.45	0.95	1.75	2.55	2.2	2.05
VK PGL	2.15	3.5	2.6	2.5	2.05	3.5	2.55	2.2	2.75	3.2	2.5	2.25
NM PGL	0.95	1.75	1.25	1.15	0.85	1.35	1.2	0.85	0.96	1.15	1.05	0.95

Chú thích: VK PGL: VK phân giải lân; NM PGL: nấm mốc phân giải lân;

Tiến hành nuôi các chủng trong thiết bị lên men xốp ở các nhiệt độ là 25, 30, 35, 40°C. Kết quả nghiên cứu cho thấy cả 6 chủng tuyển chọn đều phát triển trong khoảng nhiệt độ từ 25-40°C, trong đó khoảng nhiệt độ thích hợp là từ 30-35°C. Ở 30°C, mật độ tế bào đạt cao nhất, có nghĩa là nhiệt độ nuôi cấy 30°C là nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển của các chủng này (Bảng 3.1.7).

(6). Lựa chọn pH môi trường

Bảng 3.1.8. Ảnh hưởng của pH môi trường lên mật độ VSV trong các nồi lên men xốp

Kích thước nồi LM (lít)	Mật độ VSV trong chế phẩm (x 10 ⁹ CFU/g)											
	14				80				150			
Độ pH	5	6	7	8	5	6	7	8	5	6	7	8
<i>Azotobacter</i>	1.05	1.24	1.35	1.05	1.15	1.45	1.52	1.05	1.05	1.35	1.45	1.15
<i>Azospirillum</i>	2.75	3.65	4.15	3.35	2.95	3.55	3.95	3.05	2.95	3.15	2.9	2.05
<i>Acetobacter</i>	2.25	3.5	2.85	2.85	2.75	3.85	3.45	2.95	2.25	3.8	3.25	2.7
VK PGL	3.05	4.1	4.5	2.55	3.45	4.05	3.55	3.5	3.05	3.15	3.95	3.35
Mốc PGL	0.95	1.55	1.25	1.05	1.25	1.63	1.5	0.95	1.05	1.29	1.17	0.95

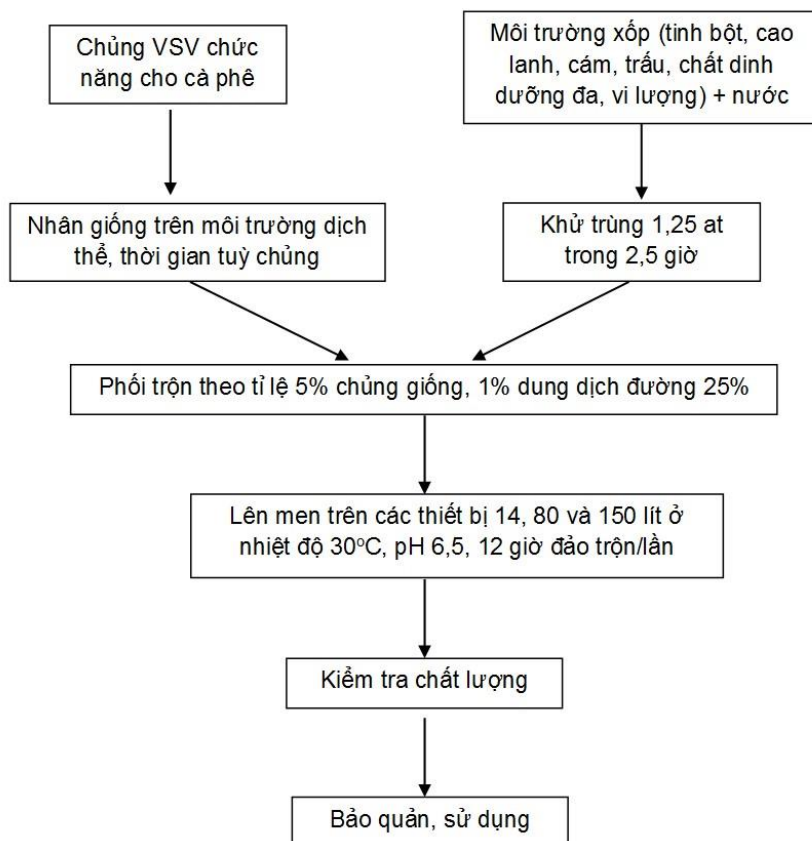
Chú thích: VK PGL: VK phân giải lân; NM PGL: nấm mốc phân giải lân;

Tiến hành nuôi cấy các chủng VSV ở các môi trường và thời gian đã được xác định ở nghiên cứu trước, tại nhiệt độ 30°C, pH môi trường là 5,6,7,8. Kết quả cho thấy, tất cả các chủng VSV nghiên cứu đều phát triển được trong dải pH từ 5 đến 8. Căn cứ vào mật độ tế bào trong chế phẩm, đã xác định được 4 chủng VK có pH tối ưu là 7; còn chủng *Acetobacter* và mốc PGL có pH tối ưu là 6. Tuy nhiên, ở pH = 7 các chủng này vẫn phát triển tốt, do đó có thể ứng dụng đồng thời cả 6 chủng này trong cùng một hệ thống xử lý ở pH = 6,5.

Như vậy, quy trình nhân giống trong nồi với các thể tích 14lít, 80 lít, 150 lít lên men

xốp các chủng VSV chức năng cho cây cà phê với các điều kiện như sau: tỉ lệ phối trộn 5%, pH môi trường 6,5, độ ẩm môi trường 55%, nhiệt độ lên men 30°C, chu kỳ đảo trộn 12 giờ/lần, thời gian lên men 3 ngày. Cụ thể các bước của quy trình nhân giống trong nồi với các thể tích 14 lít, 80 lít, 150 lít lên men xốp các chủng VSV chức năng cho cây cà phê thể hiện (Hình 3.1.1)

Mô tả quy trình nhân giống:



Hình 3.1.1. Sơ đồ quy trình nhân giống trong nồi lên men xốp

1. Chuẩn bị các môi trường dịch thể, khử trùng ở 121°C, 20 phút. Chủng VSV hữu ích thuần khiết từ môi trường thạch nghiêng được nhân giống trên môi trường dịch thể bằng nuôi cấy lắc 200 vòng/ phút ở 30°C/ 3 ngày (mật độ tế bào đạt khoảng $10^9 - 10^{10}$ CFU/ml thì cấy vào môi trường xốp).

2. Chuẩn bị môi trường xốp bằng phối trộn cát, tinh bột, cao lanh, trấu, cám, CaCO_3 , chất dinh dưỡng đa vi lượng, khử trùng ở 125°C (1,25 at, 150 phút).

3. Phối trộn 5% dịch nuôi mỗi loại, 1% nước đường nồng độ 25% vào môi trường xốp

vô trùng để môi trường đạt ẩm độ khoảng 55%.

4. Tiến hành lên men xộp trên các thiết bị lên men 14, 80 hoặc 150 lit (tùy theo nhu cầu) trong thời gian 3 ngày, pH môi trường duy trì ở 6,5, nhiệt độ duy trì ở 30°C, sau 12 giờ cho thiết bị đảo trộn đều chế phẩm.

5. Kiểm tra mật độ VSV hữu ích trong chế phẩm (Mật độ VK khi mới cấy đạt 10^6 đến 10^7 tế bào trong 1 g chế phẩm. Sau 3 ngày lên men, mật độ VK trong chế phẩm đạt 10^9 CFU/g. (đạt TCVN do Bộ NN & PTNT quy định cho chất lượng phân vi sinh thanh trùng).

6. Tiến hành đóng gói, bảo quản trong tối ở nhiệt độ phòng cho đến khi sử dụng.

3.2.2.2. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình thu hồi và tạo sản phẩm

Chất mang là những chất giúp VSV trong chế phẩm vi sinh tồn tại và phát triển, tạo điều kiện thuận lợi cho vận chuyển, bảo quản và sử dụng. Chất mang là cơ chất để VSV trú ngụ và duy trì mật độ trong thời gian từ khi sản xuất đến khi sử dụng. Ngoài các yêu cầu về đặc tính vật lý, cảm quan, chất mang phải bảo đảm không gây ảnh hưởng xấu đến VSV, người, động thực vật, môi trường sinh thái và chất lượng nông sản.

Bước 3. Lựa chọn chất mang phù hợp trong sản xuất chế phẩm

(1) Lựa chọn thành phần chất mang

Thành phần, tỷ lệ phối trộn chất mang, men giống, ẩm độ và kỹ thuật khử trùng là những yếu tố ảnh hưởng rất nhiều đến chất lượng, giá thành sản phẩm, khả năng sản xuất và áp dụng trên diện rộng. Chất mang được lựa chọn phải đảm bảo đủ dinh dưỡng để VSV có thể tồn tại và duy trì mật độ tế bào theo thời gian bảo quản. Khả năng tồn tại của các chủng VSV trong chất mang sau quá trình bảo quản là chỉ tiêu đánh giá chất mang đó có phù hợp cho sản xuất chế phẩm hay không.

Kết quả nghiên cứu lựa chọn tỷ lệ phối trộn thành phần chất mang được trình bày trong **bảng 3.1.9** cho thấy ảnh hưởng của các nguồn chất mang lên sự sống sót và phát triển của các chủng VSV hữu ích. Mật độ ban đầu chủng vào các công thức chất mang là tương đương nhau. Khi bảo quản ở nhiệt độ phòng (28 - 30°C) thì mật số VSV từ tuần 1 đến tuần 2 ở tất cả các công thức đều khác biệt nhau ở mức ý nghĩa. So sánh các công thức từ 1 - 5, các chủng VSV hữu ích đều tỏ ra ưa thích nhất với nguồn chất mang là than bùn, sau đó

đến cao lạnh, đất phù sa, tinh bột sắn và cuối cùng là trấu. Khi kết hợp 2 cặp chất mang với nhau, mật độ VSV cũng tăng lên.

Bảng 3.1.9. Ảnh hưởng của các thành phần chất mang đến mật độ tế bào các chủng VSV

Công thức	Mật độ các chủng VSV hữu ích trên các nền chất mang 10^9 (CFU/g)									
	A. <i>Chroococcum</i> Ab-CF7.2		Ac. <i>diazotrophicus</i> Ac-CF 2.2		<i>Az. brasilense</i> As-CF 1.5		B. subtilis VL- CF 7.3		A. tubingenensis ML- CF1.3	
	1 tuần	2 tuần	1 tuần	2 tuần	1 tuần	2 tuần	1 tuần	2 tuần	1 tuần	2 tuần
1	0,15	0,37	0,85	1,12	0,79	1,05	0,88	1,75	0,12	0,45
2	0,13	0,32	0,72	1,05	0,75	0,95	0,79	0,99	0,15	0,43
3	0,09	0,22	0,67	1,00	0,71	0,87	0,72	0,85	0,09	0,38
4	0,08	0,21	0,55	0,85	0,48	0,82	0,65	0,85	0,09	0,32
5	0,07	0,18	0,46	0,75	0,46	0,79	0,62	0,81	0,08	0,25
6	0,25	0,55	0,95	1,52	0,89	0,95	0,95	1,72	0,37	0,58
7	0,17	0,41	0,82	1,50	0,79	0,90	0,85	1,32	0,25	0,51
8	0,17	0,38	0,79	1,05	0,75	0,89	0,79	1,23	0,22	0,48
9	0,15	0,30	0,85	0,95	0,82	0,97	0,88	1,05	0,18	0,35
10	0,15	0,32	0,75	1,00	0,74	0,95	0,85	1,05	0,18	0,32
11	0,13	0,28	0,68	0,85	0,71	0,98	0,78	0,98	0,16	0,29
12	0,12	0,27	0,57	0,87	0,67	0,87	0,67	0,97	0,15	0,27
13	0,10	0,22	0,55	0,79	0,65	0,85	0,58	0,95	0,11	0,26
14	0,07	0,20	0,47	0,71	0,60	0,87	0,50	0,97	0,09	0,23
15	0,07	0,21	0,42	0,68	0,46	0,72	0,45	0,78	0,08	0,21
16	0,35	1,05	1,35	1,65	1,38	1,65	1,25	1,85	0,45	1,15

Các công thức có thành phần chất mang là than bùn (công thức 1, 6 - 9, 16) có mật số luôn cao hơn các công thức không có than bùn (công thức 2 - 5, 10 - 15). Do than bùn có hàm lượng hữu cơ cao, khả năng giữ ẩm tốt nên thích hợp cho sự sống sót và phát triển của VSV hơn các công thức không có thành phần này. Từ tuần 1 đến tuần 2 thì mật số VSV tăng đều ở hầu hết các công thức. Sau 2 tuần bảo quản chế phẩm ở nhiệt độ phòng ta thấy công thức 16 có thành phần chất mang thích hợp nhất cho sự sinh trưởng của VSV, đạt mật số 1,05 - 1,85 x 10^9 CFU/g chất mang (phù hợp với TCVN cho phân vi sinh trên nền chất

mang thanh trùng). Nguyên nhân của sự khác biệt này là do nền chất mang NT16 có kết hợp đủ hết các thành phần dinh dưỡng, đồng thời giá thể cũng tối xộp hơn, do vậy tạo điều kiện thông thoáng cho vi sinh tồn tại và phát triển (vì các chủng vi sinh tham gia thí nghiệm đều là loại hiếu khí). Đây cũng chính là công thức phối trộn chất mang thích hợp nhất cho việc sản xuất chế phẩm sinh học trên nền chất mang khử trùng theo TCVN.

(2) Nghiên cứu tỉ lệ phối trộn chất mang

Trong nghiên cứu này một số yếu tố có ảnh hưởng đáng kể đến mật độ VSV được chọn để nghiên cứu tối ưu hoá. Các biến được lựa chọn dựa trên thành phần môi trường xộp với các mã code và giá trị thực của biến được trình bày bảng 3.1.10.

Bảng 3.1.10. Mã hóa các biến số

Các biến số (g/kg)	Mức thấp (-)	Mức cơ bản (0)	Mức cao (+)	Khoảng biến thiên
x ₁ : Hàm lượng than bùn	260	280	300	20
x ₂ : Hàm lượng cao lanh	260	280	300	20
x ₃ : Hàm lượng tinh bột	120	140	160	20

Với các yếu tố đã chọn ở trên, tiến hành xây dựng mô hình thí nghiệm theo phương pháp tổ hợp. Từ **bảng 3.1.10** tiến hành tạo môi trường xộp theo các yếu tố khảo sát. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở **bảng 3.1.11**.

Bảng 3.1.11. Sự biến động mật độ các nhóm VSV trong các công thức

Công thức	Thành phần giá thể			Mật độ các chủng VSV hữu ích trên các giá thể 10 ⁹ (CFU/g)				
	Than bùn	Cao lanh	Tinh bột	<i>A. chroococcum</i> Ab-CF7.2	<i>Ac. diazotrophicus</i> Ac-CF 2.2	<i>Az. brasilense</i> As-CF 1.5	<i>B. subtilis</i> VL-CF 7.3	<i>A. tubingensis</i> ML-CF1.3
1	300	260	140	1,37	1,85	2,05	2,35	1,25
2	300	280	120	1,15	1,72	1,70	1,85	1,22
3	280	280	140	1,05	1,65	1,65	1,85	1,15
4	260	300	140	1,05	1,25	1,82	1,63	1,05
5	280	300	120	1,01	1,37	1,75	1,85	1,22
6	280	260	160	1,02	1,55	1,35	1,75	1,25

7	260	280	160	1,01	1,15	1,45	1,56	1,15
---	-----	-----	-----	------	------	------	------	------

Từ kết quả ở **bảng 3.1.11** ta thấy công thức 1 cho mật độ VSV đạt cao nhất, suy ra thành phần môi trường xấp xỉ tối ưu để sản xuất chế phẩm (g/kg): than bùn 300 g/kg, cao lanh 260 g/kg, tinh bột 140 g/kg, đất 40 g/kg, trấu nghiền 40 g/kg, cám 5 g/kg, rỉ đường 5 g/kg, CaCO₃ 10 g/kg, nước + vi lượng 200 ml/kg.

Bước 4. Lựa chọn bao bì bảo quản chế phẩm

Sử dụng bao bì để bao gói, chứa đựng sản phẩm sau quá trình sản xuất là một khâu quan trọng của quá trình tạo sản phẩm. Chế phẩm CAFE HTD-01 là một trong các loại sản phẩm được sản xuất bằng công nghệ cao, chứa các nhóm VSV hữu ích, vì vậy việc lựa chọn được loại bao bì phù hợp với sản phẩm sẽ góp phần duy trì chất lượng, kéo dài thời gian sử dụng, tăng cường hiệu quả quảng bá.

(1) Kiểm tra một số đặc tính của bao bì trước khi đóng gói

Đánh giá một số đặc tính của bao bì sử dụng trong bảo quản chế phẩm CAFE HTD-01. Từ kết quả trình bày ở **bảng 3.1.12**, tiến hành lựa chọn bao bì nhựa và màng kim loại cho nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 3.1.12. Một số đặc tính của bao bì sử dụng trong bảo quản chế phẩm

Thông số Loại bao bì	Đặc tính cảm quan	Khả năng thẩm thấu oxi	Hàm lượng VSV nhiễm của bao bì (CFU/g)	Có phù hợp không
Thủy tinh	Cứng, khó vận chuyển	Hầu như không thẩm thấu	Không phát hiện	Không phù hợp
Nhựa	Mềm dễ vận chuyển	Thẩm thấu rất ít	10 ¹ - 10 ²	Phù hợp
Bao bì màng ghép kim loại	Mềm dễ vận chuyển	Hầu như không thẩm thấu	5 - 10 ¹	Phù hợp

(2) Ảnh hưởng của các loại bao bì đến số lượng VSV có trong chế phẩm theo thời gian

Ảnh hưởng của các loại bao bì đến số lượng VSV trong bao bì, thí nghiệm được tiến hành bảo quản theo túi đựng 1 kg chế phẩm. Kết quả cho thấy dạng bao bì nhựa và bao bì màng ghép kim loại có sự khác nhau, đối với màng ghép kim loại: đặc tính cảm quan bột

toi, hàm lượng VSV có trong sản phẩm ổn định, có độ đồng đều về sản phẩm, độ ẩm giữ tốt, pH ổn định, đặc biệt số lượng VSV tạp nhiễm thấp. Chính vì vậy màng ghép kim loại được sử dụng cho những nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 3.1.13. Ảnh hưởng của các loại bao bì đến số lượng VSV có trong chế phẩm

Dạng bao bì	Đặc tính cảm quan	Mật độ VSV trong chế phẩm (CFU/g)	Độ đồng đều	Độ ẩm	pH	Hàm lượng VSV tạp nhiễm (CFU/g)
Nhựa	Bột toi ít	$2,0 \times 10^6$	Không đồng đều	Hơi khô	7,5	$10^2 - 10^3$
Màng ghép kim loại	Bột toi	$7,2 \times 10^6$	Đồng đều	Âm đều	7,0	10^1

(3) Ảnh hưởng của độ ẩm chế phẩm đến chất lượng bao bì và sự biến động của VSV có trong chế phẩm

Độ ẩm của chế phẩm cũng ảnh hưởng đến chất lượng chế phẩm bao quản trong bao bì, độ ẩm thấp hay cao quá đều ảnh hưởng đến chất lượng chế phẩm CAFE HTD-01.

Bảng 3.1.14. Ảnh hưởng của độ ẩm đến số lượng VSV có trong chế phẩm

Độ ẩm của sản phẩm (%)	Đặc tính cảm quan	Mật độ VSV có trong sản phẩm (CFU/g)	Độ đồng đều của sản phẩm	Độ ẩm	pH	Hàm lượng VSV tạp nhiễm (CFU/g)
15	Bột toi	$7,2 \times 10^6$	Đồng đều	Âm đều	7,1	10^1
20	Bột toi	$4,4 \times 10^6$	Đồng đều	Âm đều	7,0	10^1
25	Bột toi kém	$2,6 \times 10^6$	Không đồng đều	Âm ướt	6,7	10^2

(4) Ảnh hưởng của khối lượng sản phẩm đến số lượng VSV có trong chế phẩm

Bảng 3.1.15. Ảnh hưởng của khối lượng sản phẩm đến số lượng VSV có trong sản phẩm

Khối lượng sản phẩm (g/500)	Đặc tính cảm quan	Mật độ VSV có trong sản phẩm (CFU/g)	Độ đồng đều của sản phẩm	Độ ẩm	pH	Hàm lượng VSV tạp nhiễm (CFU/g)
250	Bột toi	$3,5 \times 10^6$	Đồng đều	Âm đều	7,2	10^2
330	Bột toi	$4,4 \times 10^6$	Đồng đều	Âm đều	7,1	10^1
450	Bột toi	$7,2 \times 10^6$	Đồng đều	Âm đều	7,0	10^1

470	Bột toi	5,4 x 10 ⁶	Đồng đều	Âm đều	7,2	10 ¹
-----	------------	-----------------------	-------------	--------	-----	-----------------

Từ kết quả **Bảng 3.1.15.** cho thấy lượng chế phẩm đóng trong bao bì nhiều hay ít ảnh hưởng đến chất lượng chế phẩm (số lượng VSV hữu hiệu), với kết quả trên bao bì 500 g chứa 450 g chế phẩm là phù hợp nhất, số lượng VSV là 7,2. 10⁶

(5) Ảnh hưởng của thời gian đóng gói đến số lượng VSV có trong sản phẩm

Từ kết quả ở **bảng 3.1.16** cho thấy sau 2 năm (24 tháng) chế phẩm CAFE HTD-01 đóng gói bằng bao bì màng ghép kim loại, bảo quản nhiệt độ phòng, chế phẩm vẫn đạt trên 10⁶ đảm bảo cho chất lượng vi sinh theo TCVN. Như vậy, bao bì chứa chế phẩm CAFE HTD-01 được lựa chọn là bao bì màng ghép kim loại, bảo quản ở điều kiện mát, đóng 450 g chế phẩm trong túi 500 g, sau 2 năm (24 tháng) chế phẩm vẫn đạt 10⁶ đảm bảo cho chất lượng vi sinh theo TCVN.

Bảng 3.1.16. Ảnh hưởng của thời gian đóng gói đến số lượng VSV có trong sản phẩm

C hỉ tiêu thử nghiệm	Tần số lấy mẫu (tháng)						
	Ba n đầu	3	6	9	12	18	24
Cảm quan	B ột toi	B ột toi	B ột toi	B ột toi	B ột toi	B ột toi	B ột toi
Độ ẩm	Â m đều	Â m đều	Â m đều	Â m đều	Â m đều	Â m đều	Â m đều
VSV (CFU/ g)	7, 4. 10 ⁶	7, 2. 10 ⁶	7, 1. 10 ⁶	5, 1. 10 ⁶	4, 2. 10 ⁶	3, 5. 10 ⁶	1, 2. 10 ⁶

3.2.2.3. Quy trình sản xuất chế phẩm quy mô 1000 kg/mẻ

Quy trình sản xuất chế phẩm CAFE HTD-01 trong canh tác cà phê được thực hiện ở bao gồm các bước sau:

Bước 1: Chuẩn bị dịch nuôi cấy của các chủng VSV

Để sản xuất 1000 kg chế phẩm thì cần 10kg dịch nuôi của mỗi loại VSV, dịch nuôi cấy các chủng VSV được chuẩn bị như sau.

- Lấy các chủng VSV hữu ích thuần khiết, gồm 5 chủng VSV: *Azotobacter*

chroococum Ab-CF 7.2; *Acetobacter diazotrophicus* Ac-CF2.2; *Azospirillum brasilense* As-CF1.5; *Bacillus subtilis* VL-CF7.3; *Aspergillus tubingensis* ML-CF1.3 và *Pseudomonas fluorescens* ĐK-CF4.5 (các chủng VSV này đều được phân lập từ đất trồng cà phê) từ môi trường thạch nghiêng cho vào nhân giống trên môi trường dịch thể tương ứng: Môi trường Ashby mannitol: *Azotobacter chroococum* Ab-CF 7.2; Môi trường khoáng: *Az. brasilense* As-CF 1.5. Môi trường LGIP : *Ac. diazotrophicus* Ac-CF 2.2. Môi trường Gerresen (MT9): *Bacillus subtilis* VL-CF7.3. Môi trường Czapek-dox: *Aspergillus tubingensis* ML-CF1.3. Môi trường SPA (MT12) : *Pseudomonas fluorescens* ĐK-CF4.5.

- Các bình giống được nuôi cấy trong hệ thống lên men (sử dụng hệ thống lên men 20 lít) tuần hoàn khí liên tục ở nhiệt độ 30°C trong thời gian 3 ngày để tạo ra dịch nuôi cho mỗi loại VSV, khi mật độ tế bào đạt khoảng 10^7 - 10^9 CFU/ml thì cấy vào môi trường nuôi cấy xốp.

Bước 2: Chuẩn bị môi trường nuôi cấy xốp (hỗn hợp chất mang) bằng cách: phối trộn cao lanh, than bùn, trấu nghiền, cám, bột sắn, đường kính, vôi bột, nước + chất dinh dưỡng đa vi lượng (gồm K_2HPO_4 , $MgSO_4$ và NaCl phối trộn với nhau theo tỷ lệ 1:1:1). Môi trường nuôi cấy xốp vô trùng là hỗn hợp chất mang được phối trộn từ các thành phần theo tỷ lệ % khối lượng. Môi trường xốp sau khi phối trộn để qua đêm cho vật liệu hút ẩm đều và đồng nhất, khử trùng hỗn hợp chất mang ở nhiệt độ 125°C, áp suất 1,25 at, thời gian 150 phút.

Bước 3: Phối trộn các thành phần để tạo chế phẩm VSV chức năng CAFE HTD-01

Bằng cách phối trộn 1% dịch nuôi mỗi loại vào môi trường xốp vô trùng để môi trường đạt độ ẩm khoảng 30%. Sản xuất 1000 kg chế phẩm vi sinh chức năng CAFE HTD-01, tỷ lệ phối trộn cụ thể như sau:

- 10 kg dịch nuôi cấy *Azotobacter chroococum* Ab-CF 7.2 có mật độ VSV bằng hoặc lớn hơn 10^7 CFU/g dịch nuôi;

- 10 kg dịch nuôi cấy *Acetobacter diazotrophicus* Ac-CF2.2 có mật độ VSV bằng hoặc lớn hơn 10^7 CFU/g dịch nuôi;

- 10 kg dịch nuôi cấy *Azospirillum brasilense* As-CF1.5 có mật độ VSV bằng hoặc lớn hơn 10^7 CFU/g dịch nuôi;

- 10 kg dịch nuôi cấy *Bacillus subtilis* VL-CF7.3 mật độ VSV bằng hoặc lớn hơn 10^7 CFU/g dịch nuôi;

- 10 kg dịch nuôi cấy *Aspergillus tubingensis* ML-CF1.3 có mật độ VSV bằng hoặc lớn hơn 10^7 CFU/g dịch nuôi;

- 950 kg hỗn hợp chất mang (hỗn hợp chất mang là môi trường xốp vô trùng có chứa khoảng 1% nước đường nồng độ 25%).

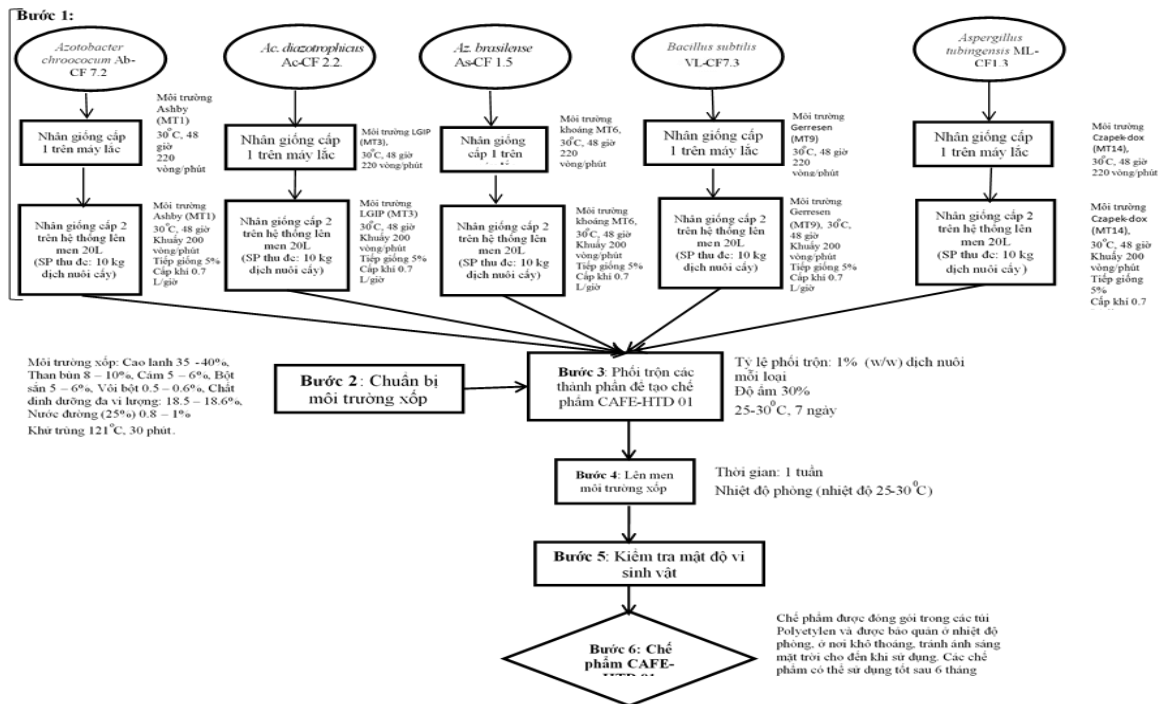
Bảng 3.1.17. Thành phần hỗn hợp chất mang trong 1000 kg môi trường nuôi cấy xốp

TT	Thành phần	Tỷ lệ %	Số lượng nguyên liệu cho mẻ sản xuất quy mô 1000 kg
1	Cao lanh:	35 - 40%	380 kg
2	Than bùn:	20 - 25 %	230 kg
3	Trấu nghiền:	8 - 10%	100 kg
4	Cám:	5 - 6%	55 kg
5	Bột sắn:	5 - 6%	55 kg
6	Vôi bột:	0,5 - 0,6%	6 kg
7	Chất dinh dưỡng đa vi lượng (gồm K_2HPO_4 , $MgSO_4$ và NaCl phối trộn với nhau theo tỷ lệ 1:1:1)	18,5 - 18,6%	164 kg
8	Nước đường (nồng độ 25%)	0,8 - 1%	10 kg
9	Nước máy		Bổ sung nước đến khi đạt độ ẩm 30%

Bước 4: Lên men trong môi trường xốp trong 1 tuần ở nhiệt độ phòng (nhiệt độ 25-30 °C).

Bước 5: Kiểm tra mật độ VSV hữu ích trong chế phẩm. Mật độ VSV khi mới cấy đạt 10^6 đến 10^7 tế bào trong 1g chế phẩm. Sau 7-10 ngày giữ ở nhiệt độ phòng, mật độ VSV trong chế phẩm đạt từ 10^7 CFU/g trở lên (TCVN).

Bước 6: Đóng gói và bảo quản.



Hình 3.1.2. Sơ đồ quy trình sản xuất chế phẩm CAFE-HTD-01

3.2.2.4. Nghiên cứu xây dựng chỉ tiêu chất lượng chế phẩm

Chế phẩm được tối ưu hoá thành phần và điều kiện nuôi cấy để mật độ vi sinh đạt từ 10^7 CFU/g trở lên sau 1 tuần cấy vào và đã được theo dõi biến động mật độ VSV theo thời gian bảo quản ở nhiệt độ phòng. Kết quả xác định số lượng VSV trong chế phẩm theo thời gian bảo quản được trình bày ở **bảng 3.1.18**

Khi nghiên cứu khả năng tồn tại của các chủng VSV trong chế phẩm nhận thấy chúng đều sinh trưởng và phát triển tốt trong chế phẩm. Chế phẩm có thể bảo quản trong 6 tháng ở nhiệt độ phòng (đạt mật độ theo tiêu chuẩn ngành Nông nghiệp TCVN 6167-1997, TCVN 6166 : 2002). Hoạt tính sinh học của các chủng cũng không bị mất đi sau thời gian bảo quản.

Bảng 3.1.18. Mật độ VSV trong chế phẩm theo thời gian (CFU/g khối lượng khô)

Chủng VSV	Mật độ VSV trong chế phẩm (CFU/g)						
	1 tuần	1 tháng	2 tháng	3 tháng	4 tháng	5 tháng	6 tháng
<i>Azotobacter</i>	$0,35 \times 10^9$	$1,1 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$1,25 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$	$8,05 \times 10^7$	$1,85 \times 10^7$
<i>Azospirillum</i>	$1,3 \times 10^9$	$5,5 \times 10^8$	$3,5 \times 10^8$	$3,5 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$	$1,5 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$
<i>Acetobacter</i>	$0,85 \times 10^9$	$2,75 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$	$1,6 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$
VSV phân giải lân tổng số	$1,9 \times 10^9$	$7,5 \times 10^8$	$5,5 \times 10^8$	$5,6 \times 10^8$	$4,2 \times 10^8$	$3,5 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$

3.2.2.5. Kết quả đánh giá chất lượng sản phẩm

(1) Đánh giá sự ổn định hoạt tính, mật độ các chủng VSV trong chất mang của chế phẩm CAFE HTD-01

Chế phẩm được tối ưu hoá thành phân và điều kiện nuôi cấy để đạt mật độ từ 10^7 CFU/g trở lên và đã được theo dõi biến động mật độ VSV theo thời gian bảo quản ở nhiệt độ phòng. Kết quả xác định số lượng VSV trong chế phẩm theo thời gian bảo quản được trình bày ở **bảng 3.1.19**.

Bảng 3.1.19. Mật độ VSV trong chế phẩm theo thời gian (CFU/g khối lượng khô)

Vi sinh vật	Mật độ VSV ($\times 10^7$ CFU/g) trong chế phẩm CAFE HTD-01 theo tháng						
	0	3	6	9	12	18	24
<i>Azotobacter</i>	7,7	6,5	4,3	3,2	2,1	1,0	0,8
<i>Acetobacter</i>	7,4	6,8	4,7	3,8	2,5	1,9	1,2
<i>Azospirillum</i>	8,7	6,5	4,5	3,7	2,5	1,7	1,2
<i>Bacillus</i>	9,8	8,5	6,2	5,5	4,6	3,5	2,2
<i>Aspergillus</i>	8,7	7,5	6,3	5,2	4,1	3,0	2,8

Hoạt tính cố định đạm, phân giải lân và sinh chất kích thích sinh trưởng IAA của các chủng phân lập lại trên các môi trường kiểm tra vẫn ổn định (**bảng 3.1.20**)

Khi nghiên cứu khả năng tồn tại của các chủng VSV trong chế phẩm nhận thấy các chủng trong chế phẩm đều sinh trưởng và phát triển tốt trong nguồn chất mang của chế phẩm. Vì vậy, nghiên cứu này cũng chỉ ra chế phẩm có thể bảo quản tốt nhất trong 24 tháng ở nhiệt độ phòng (đạt mật độ theo tiêu chuẩn ngành Nông nghiệp TCN 6167-1997) và hoạt tính sinh học của các chủng cũng không bị mất đi trong thời gian bảo quản. Tuy nhiên, chế phẩm CAFE HTD-01 được sử dụng tốt nhất trong 12 tháng sau khi sản xuất.

Bảng 3.1.20. Hoạt tính của VSV trong chế phẩm theo thời gian

Vi sinh vật	0 tháng	3 tháng	6 tháng	9 tháng	12 tháng	18 tháng	24 tháng
Hoạt tính cố định đạm của VSV trong chế phẩm CAFE HTD-01							
<i>Azotobacter</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
<i>Acetobacter</i>	+++	+++	+++	++	++	+	+
<i>Azospirillum</i>	+++	+++	+++	+++	++	++	++
Hoạt tính phân giải lân của VSV trong chế phẩm CAFE HTD-01							
<i>Bacillus</i>	+++	+++	+++	+++	++	++	+
<i>Aspergillus</i>	+++	+++	+++	++	++	+	+
Hoạt tính sinh IAA của VSV trong chế phẩm CAFE HTD-01							

<i>Azotobacter</i>	++	++	++	++	++	+	+
<i>Acetobacter</i>	++	++	++	++	++	+	+
<i>Azospirillum</i>	+++	++	++	++	++	++	+
<i>Aspergillus</i>	+	+	+	+	+	+	+

Chú thích: Không hoạt tính (-); Hoạt tính yếu (+); Hoạt tính trung bình (++); Hoạt tính mạnh (+++)

Bảng 3.1.21. Số lượng VSV cố định đạm, phân giải lân trong các mẫu thí nghiệm sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 tại đất trồng cà phê tại Tây Nguyên

Thành phần VSV	Số lượng VSV, CFU/g đất	
	Mẫu thí nghiệm*	Mẫu đối chứng*
<i>Azotobacter</i>	8,6x10 ⁵	2,5x10 ²
<i>Acetobacter</i>	7,2 x10 ⁵	2,7 x10 ²
<i>Azospirillum</i>	2,5 x10 ⁵	KPH
<i>Bacillus</i>	6,3 x10 ⁵	2,5 x10 ³
<i>Aspergillus</i>	7,3 x10 ⁵	2,1 x10 ³

Chú thích: *Mẫu thí nghiệm- Cà phê được bón chế phẩm CAFE -HTD01; Mẫu đối chứng - Cà phê không được bón chế phẩm; KPH - Không phát hiện

Khả năng tồn tại của các loài VSV của chế phẩm trong hệ sinh thái đất và rễ cây của vùng canh tác. Kết quả trình bày trong bảng 3.1.21 cho thấy, phân VSV đa chức năng chỉ phát huy hiệu lực đối với cây trồng trong điều kiện thích hợp, bảo đảm cho VSV sinh trưởng, phát triển. Nếu điều kiện không thuận lợi, hiệu lực của phân VSV bị hạn chế hoặc VSV bị chết và trong một số trường hợp nhất định hiệu lực sẽ bị mất. Vì vậy trong thí nghiệm tiến hành với lô thí nghiệm bón phân vi sinh CAFE HTD-01 cho cây cà phê sau 6 tháng bón phân cho cây đồng thời theo dõi sự biến động của khu hệ vi sinh bản địa trong khu vực đất quanh vùng rễ và cũng tiến hành lấy mẫu tương tự như với mẫu đối chứng (không được bón phân vi sinh CAFE HTD-01).

Kết quả trên bảng 3.1.21 chỉ ra các mẫu đất được phân tích có mật độ các nhóm VSV chức năng khác nhau. Trong lô đối chứng không bón chế phẩm vi sinh số lượng VSV đa chức năng rất thấp hoặc không có, ngược lại trong mẫu đất thí nghiệm bón chế phẩm vi sinh đa chức năng số lượng vi sinh cố định đạm và phân giải lân tăng mạnh. Vì vậy, trong vùng đất trồng cây cà phê này nếu được bón bằng phân VSV đa chức năng năng suất cây trồng cũng như độ màu của đất sẽ được cải thiện. Kết quả này cũng lần nữa khẳng định chế phẩm CAFE HTD-01 luôn ổn định về thành phần loài VSV trong chế phẩm đồng thời chúng cũng rất phù hợp với khu hệ sinh thái đất và rễ cây cà phê.

3.2.2.6. Đề xuất giá thành sản phẩm

Quy mô công nghệ: 1.000 kg chế phẩm CAFE HTD-01/mẻ

- Thời gian chuẩn bị thiết bị và nhân giống: 36 giờ đối với VK; 96 giờ đối với nấm mốc.
- Thời gian lên men: 36 ÷ 96 giờ/mẻ
- Tổng cộng thời gian thực hiện quy trình: 96 giờ/mẻ

Tính toán giá thành sản phẩm (tính cho quy mô lên men cho 1 tấn chế phẩm CAFE HTD-01)

Bảng 3.1.22. Tổng hợp chi phí cho sản xuất 1 tấn chế phẩm

Hạng mục chi	Số tiền (VNĐ)
Hóa chất làm môi trường (1)	6.815.000
Chi phí vật liệu chất mang cho sản phẩm (2)	6.510.000
Vật tư tiêu hao (3)	3.500.000
Điện nước năng lượng (4)	3.075.000
Chi phí nhân công và quản lý chung (5)	8.945.000
Chi phí công nghệ và khấu hao thiết bị ước tính khoảng 25% chi phí giá thành (6)	7.210.000
Chi phí kho bảo quản vận chuyển và bán hàng	845.000
Giá thành sản phẩm trước thuế	36.900.000
Thuế giá trị gia tăng 10%	3.690.000
Tổng giá thành sản phẩm xuất xưởng	40.590.000

Vậy giá thành cho 1 kg chế phẩm CAFE HTD-01 khoảng 40.600 VNĐ/kg.

Sản phẩm có thể bán với giá thành từ 50.000- 60.000 VNĐ/kg.

3.2.2.7. Sản xuất 10 tấn chế phẩm

Sau khi nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất và đánh giá chất lượng chế phẩm VSV chức năng CAFE HTD-01, nhóm nghiên cứu đã tiến hành sản xuất chế phẩm để phục vụ nghiên cứu khảo nghiệm, xây dựng quy trình sử dụng, quy trình tích hợp các chế phẩm sinh hóa học và mô hình trình diễn. Kết quả trong 2018-2019 đã tiến hành sản xuất được 10 tấn chế phẩm CAFE HTD-01, sản phẩm được bàn giao cho các đơn vị thực hiện các nội dung tiếp theo.

3.2.2.8. Đăng ký chứng nhận hợp quy chuẩn kỹ thuật cho chế phẩm CAFE HTD-01

Sau khi hoàn thiện qui trình sản xuất chế phẩm CAFE HTD-01 ở quy mô pilot. Nhóm nghiên cứu đã tiến hành xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và chuẩn hoá chất cho chế phẩm

CAFE HTD-01. Kết quả sản phẩm được công bố tiêu chuẩn chất lượng sản phẩm hàng hóa theo số Quyết định 02/2020/TCCS-CNC ký ngày 8/1/2020.

3.2.3. Nghiên cứu khảo nghiệm đánh giá tác dụng đối với cây cà phê

3.2.3.1. Kết quả khảo nghiệm diện hẹp

a) Nhận xét tình hình sinh trưởng, phát triển của cây trồng trong thí nghiệm:

Chế phẩm CAFE HTD-01 ảnh hưởng đến sinh trưởng phát triển của cây cà phê theo hướng tích cực. Về mặt cảm quan nhận thấy, ô thí nghiệm có lá xanh dày bóng hơn so với ô đối chứng, các chỉ số như số cặp cành/cây, chiều dài cành tăng cao hơn so với đối chứng và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê.

* Đối với cây cà phê giai đoạn kiến thiết:

- Số cặp cành/cây: Ô thí nghiệm áp dụng công thức CT_{kt1} - CT_{kt4} có số cành/cây cao đạt được hơn ô đối chứng chỉ đạt 17 cành/cây và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Điều này chứng tỏ CAFE HTD-01 có cải thiện số cặp cành/cây.

- Chiều dài cành: Đối với cà phê thời kỳ KTCB do sinh trưởng mạnh nên sự tăng trưởng chiều dài cành khá lớn và sự tăng trưởng chiều dài cành khác biệt có ý nghĩa thống kê ở công thức thí nghiệm CT_{kt1} (160 cm) so với công thức đối chứng CT_{kt5} (142 cm). Chứng tỏ, chế phẩm CAFE HTD-01 có cải thiện chiều dài cành. Tương tự, cây cà phê giai đoạn kinh doanh ở ô thí nghiệm (có sử dụng CAFE HTD-01 đều có chiều dài cành tăng thêm cao hơn chỉ sử dụng phân chuồng (CT_{kd5}) và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê; nếu giảm 15% phân vô cơ ảnh hưởng không đáng kể đến chiều dài cành tăng thêm.

* Đối với cây cà phê giai đoạn kinh doanh 20 năm tuổi: chế phẩm CAFE HTD-01 ảnh hưởng đến các chỉ tiêu sinh trưởng như chiều dài cành tăng thêm, số cặp lá mới mọc/cành, thể hiện cụ thể như sau:

- Chiều dài cành tăng thêm được tính sau thời gian sử dụng CAFE HTD 01. Chiều dài cành này phản ánh khả năng cho quả của năm sau (niên vụ 2019-2020). Tác dụng của phân bón không chỉ cho năng suất của năm đang sử dụng còn có giá trị duy trì sinh trưởng, năng suất cho năm sau. Các công thức có sử dụng CAFE HTD-01 đều có chiều dài cành tăng thêm cao hơn công thức chỉ sử dụng phân chuồng và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê; Nhận thấy, ở công thức giảm 15% phân vô cơ ảnh hưởng không đáng kể đến chiều dài cành tăng thêm, chỉ số cành tăng thêm vẫn đạt 37,2 cm so với 32,93 cm ở ô đối chứng.

- Số cặp lá mới mọc/cành được theo dõi trên đoạn cành chính ở 4 hướng khác nhau, đánh dấu vào cành theo dõi, đo chiều dài cành tính từ điểm đánh dấu ra đầu mút cành. Chiều dài tăng trưởng của cành được tính dựa vào chiều dài của cành sau 10 tháng áp dụng trừ đi chiều dài của cành vào thời điểm bắt đầu áp dụng qui trình. Số cặp lá mới mọc thể hiện số đốt cành mới

hình thành có tiền năng mang quả ở năm tiếp theo. Trong 4 công thức thí nghiệm cho thấy số lá mới hình thành ở tất cả các công thức thí nghiệm đều cao hơn hẳn so với công thức đối chứng. Các công thức có sử dụng CAFE HTD-01 đều có số cặp lá mới mọc/cành cao hơn công thức chỉ sử dụng phân chuồng (CT_{kd5}); nếu giảm 15% phân vô cơ ảnh hưởng không đáng kể (CT_{kd2}), số cặp lá mới mọc ở công thức CT_{kd2} vẫn đạt 7,42 số cặp lá mới mọc/cành cao hơn 6,25 cặp lá mới mọc/cành ở công thức đối chứng.

b) *Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất*

- Số chùm quả/cành: cà phê tái canh đang thời kỳ KTCB nên chùm quả nằm ngay trên cành cấp 1 và số cành cấp 1 không lớn nên chiều dài cành hay số đốt khá lớn và khá ổn định. Các công thức bón phân khác nhau đã tác động đến số chùm quả/cành nhưng không lớn. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê tạo thành 2 nhóm: một nhóm thuộc công thức thí nghiệm có sử dụng chế phẩm là: CT_{kt1} (15,8 số chùm quả/cành), CT_{kt2} (15,2 số chùm quả/cành) và CT_{kt3} (14,5 số chùm quả/cành); một nhóm thuộc gồm công thức CT_{kt4} (13,6 số chùm quả/cành) và CT_{kt5} (13,0 số chùm quả/cành), thấp nhất là CT_{kt5} (không bón chế phẩm CAFE HTD-01).

- Số quả/chùm: chế phẩm CAFE HTD-01 đã tăng số quả/chùm, cao nhất thuộc CT_{kt1} (32,5 quả/chùm), thấp nhất thuộc CT_{kt5} (26,0 quả/chùm); sự khác biệt có ý nghĩa thống kê thuộc CT_{kt1}, CT_{kt2}, CT_{kt3} và CT_{kt4} so với CT_{kt4} và CT_{kt5}.

- Tỷ lệ rụng quả (%): Chế phẩm CAFE HTD-01 đã giảm tỷ lệ rụng quả đáng kể, giảm tốt nhất là CT_{kt1} (26,6%), tỷ lệ rụng quả cao nhất ở công thức đối chứng CT_{kt1} (31,5%). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Như vậy, chế phẩm CAFE HTD-01 đã cải thiện các chỉ tiêu cấu thành năng suất: Số chùm quả/cành, số quả/chùm và số quả/chùm ở cây cà phê giai đoạn kiến thiết.

+ Đối với cây cà phê giai đoạn kinh doanh: Tương tự cây cà phê giai đoạn kiến thiết, chế phẩm cũng đã có tác dụng đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất cây cà phê giai đoạn này. Thể hiện cụ thể như sau:

- Các công thức có sử dụng CAFE HTD-01 đều có tác dụng làm tăng số chùm quả/cành, số quả/chùm và làm giảm tỷ lệ rụng quả đặc biệt ở các công thức CT_{kd1} và CT_{kd2}. Khi giảm phân vô cơ 15% nếu có sử dụng CAFE HTD-01 vẫn cao hơn so với đối chứng (CT_{kd5}).

- Các chỉ tiêu về năng suất của vườn cà phê như chỉ tiêu năng suất quả tươi/hạt, năng suất nhân có tăng ở các công thức có sử dụng CAFE HTD-01, tăng cao nhất với CT_{kd1} và CT_{kd2} so với 3 công thức còn lại. Đặc biệt, khi giảm phân vô cơ 15% nếu có sử dụng CAFE HTD-01 vẫn cao hơn so với đối chứng (CT_{kd5}).

c) *Hiệu quả kinh tế của chế phẩm khảo nghiệm*: Sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 kết hợp phân chuồng đã tăng số lãi so với công thức đối chứng không sử dụng chế phẩm khoảng 40 triệu đồng/ha đối ở cả vườn cà phê kiến thiết và vườn cà phê kinh doanh.

d) *Đánh giá tính chất đất được cải thiện, khả năng làm tăng miễn dịch cây trồng đối với chế phẩm có chất cải tạo đất, phân bón có tác dụng làm tăng miễn dịch cho cây trồng*:

* Đối với vườn cà phê giai đoạn kiến thiết:

- Các chỉ tiêu nông hoá đất sau 6 tháng sử dụng CAFE HTD-01 có biến động so với trước thí nghiệm nhưng không lớn, mặc dù một số chỉ tiêu pH, hàm lượng hữu cơ (OM), N tổng số, P tổng số và kali tổng số có gia tăng nhưng chưa đạt mức có ý nghĩa thống kê. Các chỉ tiêu P dễ tiêu, K dễ tiêu có gia tăng đáng kể và mức biến động này có ý nghĩa thống kê. Như vậy, chế phẩm CAFE HTD-01 khi bón vào đất đã gia tăng hàm lượng chất dinh dưỡng dễ tiêu cụ thể là P dễ tiêu và K dễ tiêu. Công thức đối chứng có bón phân chuồng với lượng như công thức thí nghiệm nhưng hàm lượng các chất dinh dưỡng dễ tiêu chưa khác biệt rõ rệt với trước thí nghiệm. Chế phẩm CAFE HTD-01 đã có tác dụng tốt khi chuyển hoá chất dinh dưỡng từ dạng khó tiêu thành dạng dễ tiêu cho cây; điều này đã làm tăng hiệu quả sử dụng phân bón, đặc biệt khi giảm lượng phân N, P, K xuống 15%.

- Ở các công thức thí nghiệm sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 đều có tỷ lệ gây hại sâu bệnh giảm. Rệp sáp giảm ở cả chỉ số tỷ lệ cây bị rệp sáp (giảm từ 2,3% xuống còn 1% ở công thức CTkt1) và số con/cây (giảm từ 62 con/cây xuống còn 10 con/cây ở công thức CTkt1). Tỷ lệ cây bị u sưng rễ, tỷ lệ cây bị bệnh vàng lá, khô cành và đốm mắt cua cũng giảm sau 6 tháng sử dụng chế phẩm (bệnh vàng lá giảm từ 2,4 xuống còn 1%; bệnh vàng lá từ 1,1% xuống còn 0,2%; bệnh đốm mắt cua giảm từ 2,0 xuống còn 0,3%). Ngược lại, ở công thức đối chứng không sử dụng chế phẩm thì có hiện tượng tỷ lệ rệp sáp và các bệnh hại có xu hướng tăng (bệnh vàng lá tăng 3,2% lên 5%; bệnh đốm mắt cua tăng từ 1% lên 1,5%; bệnh khô cành tăng 2,2% lên 3,2%). Trong quá trình không sử dụng thêm thuốc BVTV hóa học. Điều này cho thấy, sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 đã có tác dụng giảm tỷ lệ cây bị rệp sáp, giảm tỷ lệ cây bị bệnh vàng lá, bệnh khô cành và đốm mắt cua.

* Đối với cà phê giai đoạn kinh doanh:

- Tương tự như vườn cà phê tái canh, các chỉ tiêu nông hoá đất sau 6 tháng sử dụng CAFE HTD-01 có biến động so với trước thí nghiệm nhưng không lớn, mặc dù một số chỉ tiêu pH, hàm lượng hữu cơ (OM), N tổng số, P tổng số và kali tổng số có gia tăng nhưng chưa đạt mức có ý nghĩa thống kê. Các chỉ tiêu P dễ tiêu, K dễ tiêu có gia tăng đáng kể và mức biến động này có ý nghĩa thống kê. Chế phẩm CAFE HTD-01 khi bón vào đất đã gia tăng hàm lượng khoáng dễ tiêu. Công thức đối chứng có bón phân chuồng với lượng như

công thức TN nhưng hàm lượng các chất dinh dưỡng dễ tiêu chưa khác biệt rõ rệt với trước thí nghiệm. Chế phẩm CAFE HTD-01 đã có tác dụng tốt khi chuyển hoá chất khoáng từ dạng khó tiêu thành dạng dễ tiêu cho cây; điều này đã làm tăng hiệu quả sử dụng phân bón, đặc biệt khi giảm lượng phân N, P, K xuống 15%.

- Bệnh hại cà phê kinh doanh thường nhiều hơn cà phê giai đoạn kiến thiết vì tán lá, hệ rễ nhiều hơn và nguồn bệnh tích lũy nhiều năm. Chế phẩm CAFE HTD-01 đã có tác dụng giảm các bệnh vàng lá, thán thư và khô cành. Trong đó tốt nhất là CT_{kd1} và CT_{kd 2}. Hai bệnh đáng lo nhất là bệnh vàng lá và khô cành đều giảm rõ rệt. Tỷ lệ cây bị u sưng rễ và số lượng tuyến trùng trong đất cũng giảm ở các công thức thí nghiệm. Tỷ lệ cây bị bệnh hại đều giảm xuống dưới 10%, tốt nhất là công thức CT_{kd1} và CT_{kd2}, tỷ lệ cây bệnh hại còn dưới 5%. Ngược lại, ở đối chứng tỷ lệ cây bị sâu bệnh hại đều tăng (tỷ lệ cây bệnh hại đều trên 10%). Như vậy, CAFE HTD-01 đã có tác dụng giảm tỷ lệ cây hại trên các loại sâu bệnh hại chính trên cây cà phê giai đoạn kinh doanh.

3.2.3.2. Kết quả khảo nghiệm diện rộng

a) *Nhận xét tình hình sinh trưởng, phát triển của cây trồng trong thí nghiệm:*

- Đối với vườn cà phê giai đoạn kiến thiết: Số cặp cành/cây, đây là những cành cấp 1, từ cành này sẽ hình thành cành cấp 2 (cành thứ cấp) nhưng ngay năm đầu những cành này sẽ cho quả. Số cành cấp 1 có sai khác, tăng lên ở CT_{kt}TN nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê với CT_{kt}ĐC (không có CAFE HTD-01); chứng tỏ CAFE HTD-01 có cải thiện số cành cấp 1. Đối với cà phê thời kỳ kiến thiết cơ bản do sinh trưởng mạnh nên chiều dài cành khá lớn (thời kỳ sau chậm hơn) và sự khác biệt thấy rõ ở công thức CT_{kt}TN so với CT_{kt}ĐC. Chế phẩm CAFE HTD-01 có cải thiện chiều dài cành.

- Đối với vườn cà phê giai đoạn kinh doanh: số cành trên cây được tính bao gồm cành cấp 2, cấp 3 và cả cành cấp 4 (rất ít). Những cành này sẽ cho quả. Tổng thể, số lượng cành/cây của vườn khảo nghiệm không cao (trung bình chỉ đạt 60 – 70 cành/cây) chứng tỏ sức sinh trưởng bình thường. Nếu vườn chăm sóc và phân bón tốt, số cành/cây có thể đạt 100-120 cành/cây. Tuy nhiên, khi sử dụng CAFE HTD-01 số cành/cây đã có sự khác biệt đáng kể ở công thức CF_{kd}TN so với công thức CF_{kd}ĐC, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với CF_{kd}ĐC. Tương tự, chiều dài cành phản ánh khả năng sinh trưởng của cây và vườn cây. Giữa 2 công thức có sự khác biệt về chiều dài cành, CF_{kd}TN (88,2 cm) khác biệt có ý nghĩa 95% đối với CF_{kd}ĐC (81,5 cm). Như vậy, chế phẩm CAFE HTD-01 vẫn có thể cải thiện được chiều dài cành thứ cấp trong thời kỳ kinh doanh.

- Màu sắc lá của ô thí nghiệm sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 xanh đậm hơn, phiến lá dày hơn công thức đối chứng không sử dụng chế phẩm .

b) Các yếu tố cấu thành năng suất và bội thu năng suất:

- Đối với vườn cà phê giai đoạn kiến thiết

Số chùm quả/cành: cà phê kiến thiết đang thời kỳ KTCB nên chùm quả nằm ngay trên cành cấp 1 và số cành cấp 1 không lớn nên chiều dài cành hay số đốt khá lớn và khá ổn định. Các công thức bón phân khác nhau đã tác động đến số chùm quả/cành nhưng không lớn. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, mặc dù công thức thí nghiệm cao hơn công thức đối chứng (15/14 chùm quả trên cành).

Số quả/chùm: chế phẩm CAFE HTD-01 có làm tăng số quả/chùm, CT_{kt}TN khác biệt với CT_{kt}ĐC 30,8/26,4 quả/chùm. Tuy chỉ tăng 4 quả/chùm nhưng tổng hợp tất cả số quả/cây là con số đáng kể; sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở mức cao (99,9%).

Tỷ lệ rụng quả (%): rụng quả tác động lớn tới năng suất, cà phê có tỷ lệ rụng quả không thấp, trung bình từ 30 đến 35%; giảm tỷ lệ rụng quả tác động rõ rệt tới năng suất cà phê. Chế phẩm CAFE HTD-01 đã giảm tỷ lệ rụng quả đáng kể, từ 30,2% còn 25,2% sự khác biệt này rất có ý nghĩa thống kê.

Khối lượng quả tươi/cây có sự khác biệt và khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa CT_{kt}TN so với CF_{KT}ĐC chế phẩm CAFE HTD-01 đã có tác dụng đối với khối lượng quả/cây.

Năng suất quả tươi/ha: tương tự khối lượng quả tươi, CAFE HTD-01 đã có tác dụng đối với năng suất quả tươi/ha CT_{kt}TN đã tăng khoảng 4 tấn/ha so với đối chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Năng suất nhân: năng suất nhân của công thức thí nghiệm (CT_{kt}TN) tăng rõ rệt so với CT_{kt}ĐC gần 7 tạ/ha và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê, năng suất nhân đã tăng 26,9% so với đ/c. Đây là giá trị có ý nghĩa đối với người sản xuất. Khi giảm lượng phân vô cơ 15% năng suất nhân vẫn cao (3,3 tấn nhân/ha), đặc biệt đối với cà phê trong thời kỳ kiến thiết cơ bản. Như vậy, CAFE HTD-01 có thể giúp giảm được lượng phân vô cơ, có ý nghĩa khi niên vụ cà phê 2018-2019 giá thấp hơn với trung bình nhiều năm.

- Đối với vườn cà phê kinh doanh:

Số chùm quả/cành: công thức có sử dụng CAFE HTD-01 có tăng nhẹ số chùm quả/cành, CF_{KD}TN là 11,5-12,2 chùm quả/cành so với 8,7-8,9 chùm quả/cành của CT_{kd}ĐC và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Số quả/chùm: cũng tăng ở công thức có sử dụng CAFE-HTD 01, cao nhất là CT_{kd}TN và thấp ở CT_{kd}ĐC, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Tỷ lệ rụng quả (%): công thức có sử dụng CAFE HTD-01 đã làm giảm tỷ lệ rụng quả, CT_{kd}TN đã giảm rụng quả khoảng 3,5% so với đối chứng; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Tương tự như vườn cà phê kiến thiết, các chỉ tiêu về năng suất của vườn cà phê kinh doanh có tăng nhẹ ở các công thức có sử dụng CAFE HTD-01. CT_{kd}TN có năng suất nhân tăng so với đ/c (CT_{kd}ĐC) là 438 kg/ha tương ứng 12,7%. Khi giảm phân vô cơ 15% có sử dụng CAFE HTD-01 vẫn cao hơn so với đối chứng.

Như vậy, CAFE HTD-01 đã làm tăng các yếu tố cấu thành năng suất cà phê, cơ sở để nâng cao năng suất cà phê kinh doanh. Sự khác biệt của 3 chỉ tiêu: khối lượng quả tươi, năng suất quả tươi và năng suất nhân ở công thức thí nghiệm so với công thức đối chứng có ý nghĩa thống kê ở mức cao.

c) *Hiệu quả kinh tế của chế phẩm khảo nghiệm*

- Sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 kết hợp phân chuồng đã tăng số lãi so với đ/c khoảng 13 triệu đồng đối với cà phê kiến thiết; đồng thời tỷ suất lợi nhuận trên 19,62 lần là điều kiện giúp người trồng cà phê đầu tư có hiệu quả, chưa kể giảm được chi phí bảo vệ thực vật. Vườn cà phê kiến thiết đã chọn được giống mới (TR4), có tiềm năng năng suất cao, kết hợp với người dân đầu tư đầy đủ, hợp lý mới có năng suất, sức sinh trưởng vườn cây cao như vậy. Đa số vườn cà phê kiến thiết chưa chọn đúng giống và đầu tư không hợp lý khó có thể có năng suất trên 3,5 tấn/ha, thông thường chỉ 2,5-3,0 tấn/ha.

- Đối với cà phê kinh doanh, sử dụng CAFE HTD-01 vẫn có lãi hơn so với đối chứng 11 triệu và tỷ suất lợi nhuận trên 2,6 lần. Vườn cà phê kinh doanh đã 20 năm tuổi tình trạng vườn cây đã thoái hoá xuống cấp cả cây lẫn đất, kết hợp với giá cà phê nhân năm 2019 thấp (chỉ 34.000 đ/kg) đã đạt được lợi nhuận và tỷ suất lợi nhuận trên là điều kiện để đầu tư vườn cây tốt hơn.

e) *Đánh giá tính chất đất được cải thiện, khả năng làm tăng miễn dịch cây trồng đối với chế phẩm có chất cải tạo đất, phân bón có tác dụng làm tăng miễn dịch cho cây trồng:*

- Đối với cây cà phê giai đoạn kiến thiết :

Các chỉ tiêu nông hoá đất sau 6 tháng sử dụng CAFE HTD-01 có biến động so với trước thí nghiệm nhưng không lớn, mặc dù một số chỉ tiêu pH, hàm lượng hữu cơ (OM), N tổng số, P tổng số và kali tổng số có gia tăng nhưng chưa đạt mức có ý nghĩa thống kê. Các chỉ tiêu P dễ tiêu, K dễ tiêu có gia tăng đáng kể và mức biến động này có ý nghĩa thống kê. Chế phẩm CAFE HTD-01 khi bón vào đất đã gia tăng hàm lượng chất dinh dưỡng dễ tiêu. Công thức đối chứng có bón phân chuồng với lượng như công thức thí nghiệm nhưng hàm lượng các chất khoáng dễ tiêu chưa khác biệt rõ rệt với trước thí nghiệm. Chế phẩm CAFE HTD-01 đã có tác dụng tốt khi chuyển hoá chất khoáng từ dạng khó tiêu thành dạng dễ tiêu cho cây; điều này đã làm tăng hiệu quả sử dụng phân bón, đặc biệt khi giảm lượng phân N, P, K xuống 15%.

Ở các công thức thí nghiệm sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 đều có tỷ lệ gây hại sâu bệnh thấp hơn ở công thức đối chứng. Cụ thể, tỷ lệ cây bị Rệp sáp và số con/cây đều thấp hơn đối chứng (9 con/cây ở CT_{kt}TN/ 96 con/cây ở CT_{kt}ĐC). Tỷ lệ cây bị u sưng rễ, bệnh vàng lá (1% ở CT_{kt}TN/6,4% ở CT_{kt}ĐC), khô cành (2% ở CT_{kt}TN/12% ở CT_{kt}ĐC), gỉ sắt (1% ở CT_{kt}TN/3% ở CT_{kt}ĐC) và đốm mắt cua (2% ở CT_{kt}TN/12,2% ở CT_{kt}ĐC) cũng giảm sau 6 tháng sử dụng chế phẩm so với công thức đối chứng. Trong quá trình khảo nghiệm không sử dụng thêm thuốc BVTV hóa học. Điều này cho thấy, sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 đã có tác dụng giảm tỷ lệ cây bị rệp sáp, giảm tỷ lệ cây bị bệnh vàng lá, bệnh khô cành, gỉ sắt và đốm mắt cua.

- Đối với cây cà phê giai đoạn kinh doanh :

Tương tự cây cà phê giai đoạn kiến thiết, các chỉ tiêu nông hoá đất sau 6 tháng sử dụng CAFE HTD-01 có biến động so với trước thí nghiệm nhưng không lớn, mặc dù một số chỉ tiêu pH, hàm lượng hữu cơ (OM), N tổng số, P tổng số và kali tổng số có gia tăng nhưng chưa đạt mức có ý nghĩa thống kê. Các chỉ tiêu P dễ tiêu, K dễ tiêu có gia tăng đáng kể và mức biến động này có ý nghĩa thống kê. Chế phẩm CAFE HTD-01 khi bón vào đất đã gia tăng hàm lượng khoáng dễ tiêu. Công thức đối chứng có bón phân chuồng với lượng như công thức TN nhưng hàm lượng các chất khoáng dễ tiêu chưa khác biệt rõ rệt với trước thí nghiệm. Chế phẩm CAFE HTD-01 đã có tác dụng tốt khi chuyển hoá chất dinh dưỡng từ dạng khó tiêu thành dạng dễ tiêu cho cây; điều này đã làm tăng hiệu quả sử dụng phân bón, đặc biệt khi giảm lượng phân N, P, K xuống 15%. Đặc biệt khi sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01, số lượng tuyến trùng trong đất giảm mạnh từ 84 con/100 gam đất xuống còn 15 con/100 gam đất.

Kết quả khảo nghiệm cho thấy, ở công thức sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 sau một năm thì tỷ lệ cây bị rệp, số lượng con/cây giảm mạnh. Tỷ lệ cây bị các bệnh vàng lá, gỉ sắt, đốm mắt cua và khô cành cũng giảm mạnh. Ở công thức thí nghiệm, tỷ lệ cây bị sâu bệnh đều giảm dưới 3%. Ngược lại ở công thức đối chứng tỷ lệ cây bị sâu bệnh đều tăng hơn so với trước thí nghiệm. Điều này cho thấy, sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 đã có tác dụng giảm tỷ lệ cây bị rệp sáp, giảm tỷ lệ cây bị bệnh vàng lá, bệnh khô cành, gỉ sắt và đốm mắt cua.

3.2.3.3. Quy trình và hướng dẫn sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 cho cây cà phê

Khảo nghiệm chế phẩm cung cấp VSV hữu hiệu CAFE HTD-01 cho vườn cà phê giai đoạn kiến thiết và giai đoạn kinh doanh cho kết quả:

- 1) Đã cải thiện thành phần dinh dưỡng đất, tăng các chỉ tiêu lân dễ tiêu và kali dễ tiêu.
- 2) Tăng khả năng sinh trưởng cà phê qua các chỉ tiêu: số cành thứ cấp, chiều dài cành.

a) Tăng các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất: tăng số chùm quả/cành, số quả/chùm, giảm tỷ lệ rụng; tăng năng suất nhân (hạt) là 52% (đối với cà phê kiến thiết) và 12,7% (đối với cà phê giai đoạn kinh doanh).

3) Giảm một số sâu bệnh cho vườn cà phê: giảm số cây bị rệp và số lượng rệp sáp trên cây, giảm tỷ lệ cây bị u sưng rễ và tuyến trùng trong đất; giảm tỷ lệ bệnh đối với bệnh vàng lá, gỉ sắt, đốm mắt cua và khô cành.

4) Sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01 cho cà phê đã thể hiện hiệu quả kinh tế: giảm 15% phân bón vô cơ nhưng năng suất nhân của công thức thí nghiệm tăng rõ rệt so với công thức đối chứng.

Quy trình và hướng dẫn sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01

Từ kết quả khảo nghiệm diện hẹp và diện rộng trên cây cà phê kiến thiết, đề xuất hướng dẫn sử dụng chế phẩm như sau:

+ *Liều lượng sử dụng:*

- 30 kg chế phẩm CAFE HTD-01 dùng cho 1 ha cà phê.

- Giảm 15% lượng phân hóa học trong canh tác cà phê so với quy trình chăm sóc áp dụng theo quyết định ban hành số 2085/QĐ-BNN-TT ngày 31/5/2016 của bộ NN&PTNT khi không sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01.

+ *Thời điểm sử dụng chế phẩm*

- Chế phẩm sử dụng 1 lần duy nhất trong 1 vụ canh tác cà phê.

- Bón vào thời điểm tháng 4-5 (đầu mùa mưa). Khi bón phân cần đào rãnh dọc theo 1 bên thành bồn rộng 20 cm, sâu 25 - 30 cm và lấp đất lại.

+ *Phương pháp sử dụng chế phẩm*

- Phương pháp sử dụng: chế phẩm CAFE HTD-01 ủ với phân chuồng hoai mục hoặc phân hữu cơ hoai mục ủ từ phế thải đồng ruộng, ủ 1 tháng trước khi bón.
- Phương thức ủ gồm các bước:

Bước 1: Chuẩn bị nguyên liệu: (định lượng tính cho 1 tấn phân chuồng hoai mục).

- Mỗi gói chế phẩm CAFE HTD-01 có khối lượng 5 kg

- 2 kg phân NPK

- 3 tấn phân chuồng

- Ri đường: 1 kg

- Nước tưới để đạt độ ẩm 55-60% (không sử dụng nước máy để ủ)

1 ha cà phê cần 30 kg chế phẩm CAFE-HTD 01, như vậy lượng phân chuồng hoai mục cần và đủ cho 1 ha cà phê (mật độ 1.100 cây/ha) khoảng 5,5 tấn.

Bước 2: Chọn nơi ủ

Nơi ủ: khô ráo, có thể ủ trên nền xi măng hoặc đất nền lót bằng vải nilon, trong nhà kho, chuồng nuôi không còn sử dụng. Tạo rãnh xung quanh cho nước thừa trong quá trình tưới nước tạo ẩm khi ủ. Diện tích nền khoảng 3 m²/1 tấn nguyên liệu ủ.

Bước 3: Chuẩn bị dụng cụ

- Bình tưới ozoa, cào, cuốc, xẻng.

- Vật liệu để làm mái : có thể dùng các loại vật liệu sẵn có như bạt, bao tải, nilon... che đậy và các loại lá để làm mái tránh ánh nắng, giữ nhiệt cho đồng ủ.

Bước 4 : Trộn chế phẩm với nguyên liệu ủ

- Hòa 5 kg chế phẩm CAFE HTD-01 vào 10 lít nước, (bổ sung 1 kg ri đường hoặc không), để thời gian 3÷5 tiếng đồng hồ cho tan đều.

- Trộn dung dịch chế phẩm CAFE HTD-01 với các nguyên liệu còn lại

- Tưới nước với hỗn hợp vừa trộn để độ ẩm đạt mức 55-60%.

Bước 5 : Che phủ và bảo quản

Sau khi ủ xong, đồng ủ bằng bạt, bao tải đừa hoặc nilon để nhiệt độ đồng ủ được duy trì ở mức 40-50°C. Để đảm bảo tốt hơn và tránh ánh nắng trực tiếp đồng ủ nên che thêm tấm che bằng lá hoặc mái lợp.

Bước 6 : Đảo đều và bổ sung nước, không khí

Sau khi ủ vài ngày nhiệt độ của đồng ủ tăng lên cao khoảng 40-50°C. Nên khoảng 7-10 ngày tiến hành kiểm tra, đảo trộn và nếu nguyên liệu khô thì bổ sung thêm nước. Sau khoảng 28 - 30 ngày phân chuồng đã hoại mục, mùn hóa được chế biến làm phân bón hữu cơ. Giai đoạn này, mùn được dùng để bón cây, tăng độ phì cho đất, tăng VSV cố định đạm, phân giải lân, tăng hàm lượng VSV kích thích sinh trưởng cho cây cà phê.

3.3. HOÀN THIỆN CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CHẾ PHẨM HOTIEU HTD-03

3.3.1. Tình trạng kỹ thuật của chế phẩm trước hoàn thiện

Chế phẩm HOTIEU HTD-03 được hình thành ở quy mô PTN từ đề tài mã số TN3/C01 giai đoạn 2013-2015 với tình trạng công nghệ được tổng kết trong bảng 3.1.1. Trong các giai đoạn công nghệ bao gồm (1) Tạo giống, (2) Bảo quản chủng giống, (3) Nhân giống và nhân sinh khối, (4) Thu hồi và tạo sản phẩm thì các giai đoạn (3) và (4) sẽ cần hoàn thiện khi nâng cấp chế phẩm từ quy mô PTN lên quy mô pilot.

3.3.2. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất, nâng cấp từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô pilot

3.3.2.1. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân giống, nhân sinh khối tạo chế phẩm HOTIEU HTD-03 quy mô pilot.

Để hoàn thiện quy trình nhân giống các VSV thành phần của chế phẩm HOTIEU HTD-03, tiến hành hoàn thiện các bước sau:

Bước 1. Xác lập môi trường nuôi cấy phù hợp cho quá trình nhân giống các chủng VSV chức năng.

Để lựa chọn môi trường quá trình nhân giống các chủng VSV chức năng cho cây cà phê, tiến hành đánh giá ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy khác nhau (Bảng 3.2.1) lên khả năng sinh trưởng và các hoạt tính chức năng của từng chủng (hoạt tính cố định đạm, hoạt tính phân giải lân, hoạt tính sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật).

Bảng 3.2.1. Kết quả đánh giá sinh trưởng và sự thay đổi hoạt tính của các chủng VSV khi được nuôi trên các môi trường khác nhau

Chủng <i>A. vinelandii</i> HT14.2					
Sinh trưởng (OD ~ 620 nm)		Hàm lượng NH₄⁺ (µM/mg khối lượng khô tế bào)		Hàm lượng AIA thô (mg/l)	
MT1	MT2	MT1	MT2	MT1	MT2
2,9	2,5	120,5	118,1	21,5	14,8
Chủng <i>Acetobacter diazotrophicus</i> Ac-HT4.2					
Sinh trưởng (OD ~ 620 nm)		Hàm lượng NH₄⁺ (µM/mg khối lượng khô tế bào)			
MT3	MT4	MT3	MT4		
2,5	3,1	121,5	125,5		
Chủng <i>Azospirillum brasilense</i> HT14.1					
Sinh trưởng (OD ~ 620 nm)		Hàm lượng NH₄⁺ (µM/mg khối lượng khô tế bào)			
MT5	MT6	MT5	MT6		
2,7	2,5	115,5	110,5		
Chủng mốc <i>Aspergillus niger</i> ML-HT4.1					
Sinh trưởng - khối lượng khô tế bào (g/50 ml dịch nuôi)			Hàm lượng P tan (mg/l)		
MT13	MT14	MT15	MT13	MT14	MT15
2,5	2,1	2,25	605	515	592
Chủng <i>Bacillus subtilis</i> ĐK- HT4.5					
Sinh trưởng (OD ~ 620 nm)					
MT17			MT18		
3,5			3,9		

Bước 2. Hoàn thiện quy trình nhân giống trong nồi lên men xốp các chủng VSV chức năng cây cà phê (thể tích nồi lên men 14 lít, 80 lít, 150 lít)

Tiến hành khảo sát qua đó lựa chọn lựa chọn các điều kiện thích hợp cho lên men xốp tối ưu. Các điều kiện khảo sát bao gồm: (1) Lựa chọn tỷ lệ giống cây thích hợp; (2) Lựa chọn thời gian lên men; (3) Lựa chọn độ ẩm thích hợp; (4) Lựa chọn độ thông khí; (5) Lựa chọn nhiệt độ môi trường; (6) Lựa chọn pH môi trường.

(1) Lựa chọn tỷ lệ giống cây thích hợp

Bảng 3.2.2. Ảnh hưởng của tỉ lệ giống cây lên mật độ VSV trong các nồi lên men xốp (CFU/g khối lượng khô)

Kích thước nồi LM (lít)	Mật độ VSV trong chế phẩm (x 10 ⁹ CFU/g)											
	14				80				150			
Tỉ lệ giống (%)	1	3	5	7	1	3	5	7	1	3	5	7
<i>Azotobacter</i>	0.95	1.1	1.3	1.2	0.85	1.2	1.4	1.25	1.15	1.25	1.45	0.85
<i>Azospirillum</i>	1.3	2.5	3.5	2.75	1.5	2.9	3.75	4.1	1.5	3.1	3.5	2.4
<i>Acetobacter</i>	0.85	2.75	3.2	2.8	1.85	2.25	3.25	1.87	1.1	2.7	3.6	2.5
VK PGL	1.9	4.25	5.0	3.5	2.25	4.5	5.5	4.2	2.6	3.2	4.5	3.2
NM PGL	0.9	1.25	1.25	0.8	0.85	0.9	1.00	0.85	0.7	0.85	0.95	0.75
VSV ĐK	2.85	3.0	4.1	4.0	2.7	3.25	4.12	3.22	1.95	3.45	4.5	4.02

Chú thích: VK PGL: VK phân giải lân; NM PGL: nấm mốc phân giải lân;

Trong thí nghiệm này, thay đổi tỷ lệ cấp giống vào các thiết bị lên men 14, 80 và 150 lít là 1, 3, 5, 7%. Theo kết quả nghiên cứu thu được, tỷ lệ cấp giống ban đầu thích hợp nhất cho cả 5 chủng VK và 1 chủng nấm mốc lên men ở quy mô sản xuất chế phẩm trong cả 3 nồi lên men là ở 5%. Với tỷ lệ giống cây lớn hơn hoặc nhỏ hơn, mật độ VSV trong môi trường xốp đều giảm (bảng 3.2.2)

(2). Lựa chọn thời gian lên men

Thời gian lên men thích hợp nhất cho cả 5 chủng VSV lên men trong cả 3 nồi lên men là ở 3 ngày. Với thời gian lên men ngắn hơn hoặc lâu hơn, mật độ VSV trong môi trường xốp đều giảm (bảng 3.2.3)

Bảng 3.2.3. Ảnh hưởng của thời gian lên men lên mật độ VSV trong các nồi lên men xốp (CFU/g khối lượng khô)

Kích thước nồi lên men (lít)	Mật độ VSV trong chế phẩm (x 10 ⁹ CFU/g)		
	14	80	150

Thời gian (ngày)	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<i>Azotobacter</i>	0.85	1.55	1.75	1.28	0.78	1.25	1.85	1.5	1.2	1.4	1.65	0.85
<i>Azospirillum</i>	1.5	3.1	3.25	3.05	1.85	3.9	4.1	4.15	1.45	3.4	4.75	3.25
<i>Acetobacter</i>	0.95	2.25	3.45	2.05	1.95	2.55	3.5	1.95	1.25	2.15	3.8	3.05
VK PGL	1.75	4.5	5.1	4.0	2.15	4.1	4.5	4.6	2.75	4.2	4.5	3.25
Mốc PGL	0.85	0.9	0.95	0.91	0.9	0.95	1.25	0.95	0.9	0.95	1.35	0.9
VSV ĐK	2.25	3.45	3.75	3.12	2.45	3.25	4.2	4.05	2.05	3.05	4.15	4.05

Chú thích: VK PGL: VK phân giải lân; NM PGL: nấm mốc phân giải lân; VSV ĐK: VSV đối kháng.

(3) Lựa chọn độ ẩm thích hợp

Tiến hành bổ sung nước vào giá thể theo tỉ lệ để đạt các độ ẩm khác nhau. Sau khi lên men trong các thiết bị khác nhau, kết quả đánh giá ảnh hưởng của độ ẩm giá thể lên sinh trưởng của các chủng VSV bổ sung vào môi trường xốp cho thấy: Mật độ của cả 6 chủng VSV đều đạt cao nhất trong các thiết bị lên xốp ở độ ẩm 55%. Ở độ ẩm cao hơn hoặc thấp hơn mật độ VSV đều giảm (bảng 3.2.4)

Bảng 3.2.4. Ảnh hưởng của độ ẩm môi trường giá thể lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp (CFU/g khối lượng khô)

Kích thước nôi LM (lít)	Mật độ VSV trong chế phẩm (x 10 ⁹ CFU/g)											
	14				80				150			
Độ ẩm (%)	45	50	55	60	45	50	55	60	45	50	55	60
<i>Azotobacter</i>	0.8	1.05	1.4	1.05	0.85	1.1	1.25	1.15	1.15	1.15	1.35	0.95
<i>Azospirillum</i>	3.25	3.8	4.2	3.3	1.25	3.75	4.25	4.1	2.7	3.5	4.25	3.2
<i>Acetobacter</i>	0.85	2.95	3.2	3.0	1.95	2.55	3.45	1.75	1.75	2.65	3.4	3.15
VK PGL	2.05	3.52	4.4	3.32	2.25	4.5	5.25	4.22	2.37	3.25	4.6	3.45
Mốc PGL	0.95	1.25	1.45	0.95	0.85	1.05	1.25	0.95	1.07	1.15	1.35	0.95
VK ĐK	2.65	3.25	3.75	2.2	2.6	3.35	4.05	3.12	2.75	3.25	4.0	3.1

Chú thích: VK PGL: VK phân giải lân; NM PGL: nấm mốc phân giải lân; VSV ĐK: VSV đối kháng.

(4) Lựa chọn độ thông khí

Độ thông khí thích hợp nhất cho cả 4 chủng VK và 1 chủng nấm mốc lên men trong cả 3 nôi lên men là 12 giờ đảo trộn/lần. Ở mức độ đảo trộn 6, 18, 24 giờ/lần mật độ VSV giảm hẳn (bảng 3.2.5)

Bảng 3.2.5. Ảnh hưởng của độ thông khí lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp (CFU/g khối lượng khô)

Kích thước	Mật độ VSV trong chế phẩm (x 10 ⁹ CFU/g)
------------	--

nồi LM (lít)	14				80				150			
Độ thông khí (giờ/lần)	6	12	18	24	6	12	18	24	6	12	18	24
<i>Azotobacter</i>	0.95	1.45	1.15	1.05	1.25	1.55	1.35	1.25	1.35	1.43	1.15	1.07
<i>Azospirillum</i>	2.3	3.45	2.28	2.35	3.1	4.05	3.15	2.9	2.75	3.6	2.9	2.45
<i>Acetobacter</i>	2.35	3.5	2.65	2.3	2.75	3.45	2.95	1.95	2.15	4.05	3.55	2.6
VK PGL	3.15	4.15	3.5	2.85	3.45	4.4	3.45	3.6	3.15	4.45	3.55	3.2
NM PGL	0.9	1.45	1.25	0.95	0.9	1.28	1.05	0.95	0.9	1.15	0.95	0.85
VSV ĐK	2.6	3.05	3.05	2.25	3.0	4.05	3.15	3.15	2.75	3.15	2.85	2.2

Chú thích: VK PGL: VK phân giải lân; NM PGL: nấm mốc phân giải lân; VSV ĐK: VSV đối kháng.

(5). Lựa chọn nhiệt độ môi trường

Bảng 3.2.6. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men lên mật độ VSV trong các nồi lên men xốp

Kích thước nồi LM (lít)	Mật độ VSV trong chế phẩm (x 10 ⁹ CFU/g)											
	14				80				150			
Nhiệt độ (°C)	25	30	35	40	25	30	35	40	25	30	35	40
<i>Azotobacter</i>	25	30	35	40	25	30	35	40	25	30	35	40
<i>Azospirillum</i>	0.95	1.65	1.3	1.25	0.85	1.35	1.1	1.05	1.05	1.25	1.05	0.95
<i>Acetobacter</i>	3.25	3.95	3.35	3.25	2.25	3.9	2.45	2.15	2.35	3.15	2.5	2.2
VK PGL	0.85	2.95	2.14	2.1	1.95	2.25	1.65	0.95	1.45	2.55	2.25	2.05
NM PGL	2.15	3.6	2.6	2.55	2.05	3.35	2.5	2.25	2.7	3.2	2.55	2.25
VSV ĐK	0.95	1.85	1.25	1.15	0.85	1.45	1.2	0.85	0.96	1.25	1.15	0.95
Kích thước nồi LM (lít)	Mật độ VSV trong chế phẩm (x 10 ⁹ CFU/g)											
	14				80				150			
Nhiệt độ (°C)	25	30	35	40	25	30	35	40	25	30	35	40
<i>Azotobacter</i>	0.75	1.75	1.35	1.15	0.85	1.3	1.15	1.05	1.05	1.15	1.25	0.95
<i>Azospirillum</i>	3.25	3.95	3.5	3.25	2.25	3.9	2.25	2.1	2.15	3.1	2.52	2.2
<i>Acetobacter</i>	0.85	2.75	2.15	2.0	1.95	2.25	1.45	0.95	1.75	2.55	2.2	2.05

VK PGL	2.15	3.5	2.6	2.5	2.05	3.5	2.55	2.2	2.75	3.2	2.5	2.25
NM PGL	0.95	1.75	1.25	1.15	0.85	1.35	1.2	0.85	0.96	1.15	1.05	0.95

Chú thích: VK PGL: VK phân giải lân; NM PGL: nấm mốc phân giải lân;

Tiến hành nuôi các chủng trong thiết bị lên men xốp ở các nhiệt độ là 25, 30, 35, 40°C. Kết quả nghiên cứu cho thấy cả 6 chủng tuyển chọn đều phát triển trong khoảng nhiệt độ từ 25-40°C, trong đó khoảng nhiệt độ thích hợp là từ 30-35°C. Ở 30°C, mật độ tế bào đạt cao nhất, có nghĩa là nhiệt độ nuôi cấy 30°C là nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển của các chủng này (bảng 3.2.6).

(6). Lựa chọn pH môi trường

Tiến hành nuôi cấy các chủng VSV ở các môi trường và thời gian đã được xác định ở nghiên cứu trước, tại nhiệt độ 30°C, pH môi trường là 5,6,7,8.

Bảng 3.2.7. Ảnh hưởng của pH môi trường lên mật độ VSV trong các nôi lên men xốp

Kích thước nôi LM (lít)	Mật độ VSV trong chế phẩm (x 10 ⁹ CFU/g)											
	14				80				150			
Độ pH	5	6	7	8	5	6	7	8	5	6	7	8
<i>Azotobacter</i>	1.05	1.24	1.35	1.05	1.15	1.45	1.52	1.05	1.05	1.35	1.45	1.15
<i>Azospirillum</i>	2.75	3.65	4.15	3.35	2.95	3.55	3.95	3.05	2.95	3.15	2.9	2.05
<i>Acetobacter</i>	2.25	3.5	2.85	2.85	2.75	3.85	3.45	2.95	2.25	3.8	3.25	2.7
VK PGL	3.05	4.1	4.5	2.55	3.45	4.05	3.55	3.5	3.05	3.15	3.95	3.35
NM PGL	0.95	1.55	1.25	1.05	1.25	1.63	1.5	0.95	1.05	1.29	1.17	0.95
VSV ĐK	2.35	3.05	3.55	3.05	2.85	3.45	3.05	2.75	2.75	3.05	3.55	3.25

Chú thích: VK PGL: VK phân giải lân; NM PGL: nấm mốc phân giải lân;

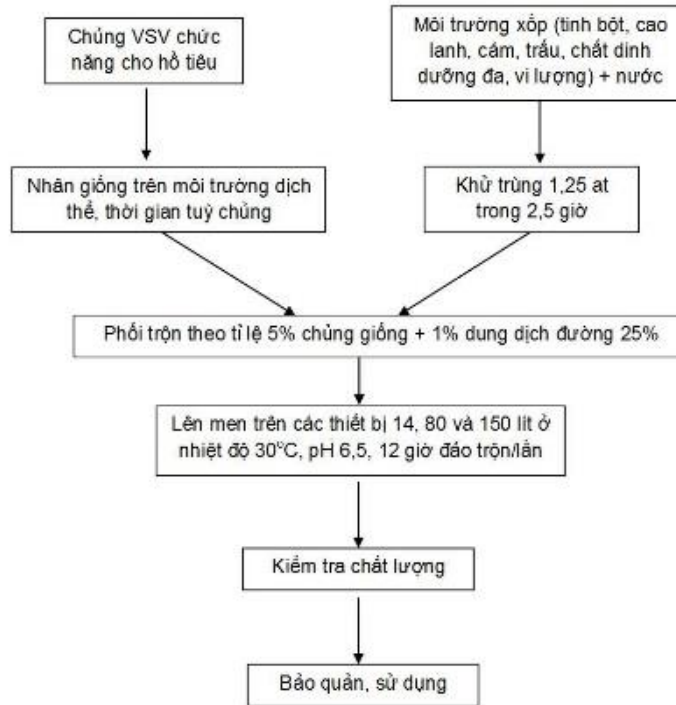
Kết quả cho thấy, tất cả các chủng VSV nghiên cứu đều phát triển được trong dải pH từ 5 đến 8. Căn cứ vào mật độ tế bào trong chế phẩm, đã xác định được 4 chủng VK có pH tối ưu là 7; còn chủng *Acetobacter* và mốc PGL có pH tối ưu là 6. Tuy nhiên, ở pH = 7 các chủng này vẫn phát triển tốt, do đó có thể ứng dụng đồng thời cả 6 chủng này trong cùng một hệ thống xử lý ở pH = 6,5 (bảng 3.2.7)

Như vậy, quy trình nhân giống trong nôi với các thể tích 14lít, 80 lít, 150 lít lên men xốp các chủng VSV chức năng cho cây hồ tiêu với các điều kiện như sau: tỉ lệ phối trộn 5%, pH môi trường 6,5, độ ẩm môi trường 55%, nhiệt độ lên men 30°C, chu kỳ đảo trộn 12 giờ/lần, thời gian lên men 3 ngày. Cụ thể các bước của quy trình nhân giống trong nôi với

các thể tích 14 lít, 80 lít, 150 lít lên men xốp các chủng VSV chức năng cho cây hồ tiêu thể hiện (Hình 3.2.1).

Mô tả quy trình nhân giống:

1. Chuẩn bị các môi trường dịch thể, khử trùng ở 121°C, 20 phút. Chủng VSV hữu ích thuần khiết từ môi trường thạch nghiêng được nhân giống trên môi trường dịch thể bằng nuôi cấy lắc 200 vòng/ phút ở 30°C/ 3 ngày (mật độ tế bào đạt khoảng 10^9 - 10^{10} CFU/ml thì cấy vào môi trường xốp).



Hình 3.2.1. Sơ đồ quy trình nhân giống trong nổi lên men xốp

2. Chuẩn bị môi trường xốp bằng phối trộn cát, tinh bột, cao lanh, trấu, cám, CaCO_3 , chất dinh dưỡng đa vi lượng, khử trùng ở 125°C (1,25 at, 150 phút).

3. Phối trộn 5% dịch nuôi mỗi loại, 1% nước đường nồng độ 25% vào môi trường xốp vô trùng để môi trường đạt ẩm độ khoảng 55%.

4. Tiến hành lên men xốp trên các thiết bị lên men 14, 80 hoặc 150 kg (tùy theo nhu cầu) trong thời gian 3 ngày, pH môi trường duy trì ở 6,5, nhiệt độ duy trì ở 30°C, sau 12 giờ cho thiết bị đảo trộn đều chế phẩm.

5. Kiểm tra mật độ VSV hữu ích trong chế phẩm (Mật độ VK khi mới cấy đạt 10^6 đến 10^7 tế bào trong 1 g chế phẩm. Sau 3 ngày lên men, mật độ VK trong chế phẩm đạt 10^9 CFU/g. (đạt TCVN do Bộ NN & PTNT quy định cho chất lượng phân vi sinh thanh trùng).

6. Tiến hành đóng gói, bảo quản trong tối ở nhiệt độ phòng cho đến khi sử dụng.

3.3.2.2. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình thu hồi và tạo sản phẩm

Chất mang là những chất giúp VSV trong chế phẩm vi sinh tồn tại và phát triển, tạo điều kiện thuận lợi cho vận chuyển, bảo quản và sử dụng. Chất mang là cơ chất để VSV trú ngụ và duy trì mật độ trong thời gian từ khi sản xuất đến khi sử dụng. Ngoài các yêu cầu về đặc tính vật lý, cảm quan, chất mang phải bảo đảm không gây ảnh hưởng xấu đến VSV, người, động thực vật, môi trường sinh thái và chất lượng nông sản

Bước 3. Lựa chọn chất mang phù hợp trong sản xuất chế phẩm

(6) Lựa chọn thành phần chất mang

Kết quả nghiên cứu lựa chọn tỷ lệ phối trộn thành phần chất mang được trình bày trong bảng 3.2.8.

Than bùn, cao lanh, đất phù sa, tinh bột sắn, trấu, CaCO_3 , ri đường là những chất mang rẻ tiền nếu được nghiên cứu và xử lý đúng cách sẽ là một môi trường hữu hiệu để các VSV có ích sống và phát triển, tạo tiền đề cho một chế phẩm vi sinh chất lượng tốt, giá thành thấp.

Kết quả bảng 3.2.8 cho thấy ảnh hưởng của các nguồn chất mang lên sự sống sót và phát triển của các chủng VSV hữu ích. Mật độ ban đầu chủng vào các công thức chất mang là tương đương nhau. Khi bảo quản ở nhiệt độ phòng ($28 - 30^\circ\text{C}$) thì mật số VSV từ tuần 1 đến tuần 2 ở tất cả các công thức đều khác biệt nhau ở mức ý nghĩa. So sánh các công thức từ 1 - 5, các chủng VSV hữu ích đều tỏ ra ưa thích nhất với nguồn chất mang là than bùn, sau đó đến cao lanh, đất phù sa, tinh bột sắn và cuối cùng là trấu. Khi kết hợp 2 cặp chất mang với nhau, mật độ VSV cũng tăng lên. Các công thức có thành phần chất mang là than bùn (công thức 1, 6 - 9, 16) có mật số luôn cao hơn các công thức không có than bùn (công thức 2 - 5, 10 - 15). Do than bùn có hàm lượng hữu cơ cao, khả năng giữ ẩm tốt nên thích hợp cho sự sống sót và phát triển của VSV hơn các công thức không có thành phần này.

Bảng 3.2.8. Ảnh hưởng của các thành phần chất mang đến mật độ tế bào các chủng

VSV

Công thức	Mật độ các chủng VSV hữu ích trên các nền chất mang 10^9 (CFU/g)									
	<i>A. vinelandii</i> Ab-HT14.2		<i>Ac.</i> <i>diazotrophicus</i> Ac-HT4.2		<i>Az. brasilense</i> As-HT14.1		<i>A. niger</i> ML- HT4.1		<i>B. subtilis</i> ĐK- HT4.5	
	1 tuần	2 tuần	1 tuần	2 tuần	1 tuần	2 tuần	1 tuần	2 tuần	1 tuần	2 tuần
1	0,28	0,57	0,85	1,10	0,83	1,42	0,85	1,10	0,83	1,42
2	0,25	0,52	0,77	1,05	0,80	1,23	0,77	1,05	0,80	1,23
3	0,18	0,28	0,69	1,00	0,77	1,07	0,69	1,00	0,77	1,07
4	0,18	0,23	0,65	0,98	0,65	0,95	0,65	0,98	0,65	0,95
5	0,15	0,19	0,58	0,85	0,54	0,82	0,58	0,85	0,54	0,82
6	0,42	0,53	0,95	1,52	0,98	1,37	0,95	1,52	0,98	1,37
7	0,36	0,46	0,92	1,46	0,89	1,21	0,92	1,46	0,89	1,21
8	0,32	0,38	0,83	1,25	0,82	1,15	0,83	1,25	0,82	1,15
9	0,26	0,32	0,85	1,05	0,77	0,97	0,85	1,05	0,77	0,97
10	0,23	0,35	0,78	1,35	0,74	0,95	0,78	1,35	0,74	0,95
11	0,21	0,29	0,68	0,95	0,71	1,25	0,68	0,95	0,71	1,25
12	0,18	0,27	0,55	0,87	0,67	1,09	0,55	0,87	0,67	1,09
13	0,16	0,25	0,53	0,83	0,65	0,95	0,53	0,83	0,65	0,95
14	0,11	0,20	0,49	0,81	0,63	0,87	0,49	0,81	0,63	0,87
15	0,11	0,23	0,47	0,79	0,58	0,76	0,47	0,79	0,58	0,76
16	0,65	0,85	1,05	1,37	1,44	1,55	1,05	1,37	1,44	1,55

Từ tuần 1 đến tuần 2 thì mật số VSV tăng đều ở hầu hết các công thức. Sau 2 tuần bảo quản chế phẩm ở nhiệt độ phòng ta thấy công thức 16 có thành phần chất mang thích hợp nhất cho sự sinh trưởng của VSV, đạt mật số 1,05 - 1,85 x 10^9 CFU/g chất mang (phù hợp với TCVN cho phân vi sinh trên nền chất mang thanh trùng). NT16 gồm các thành phần: 28% TB + 28% CL + 14% Tb + 4% Đ + 4% T + 0,5% cám + 0,5% rỉ đường + 1% CaCO₃ + 20% nước-vi lượng

Nguyên nhân của sự khác biệt này là do nền chất mang NT16 có kết hợp đủ hết các thành phần dinh dưỡng, đồng thời giá thể cũng tối ưu hơn, do vậy tạo điều kiện thông thoáng cho vi sinh tồn tại và phát triển (vì các chủng vi sinh tham gia thí nghiệm đều là loại hiếu khí).

Nền chất mang NT16 có mối quan hệ tương hỗ có ý nghĩa thống kê với mật độ VSV. Chứng tỏ nền chất mang NT16 thích nghi nhất cho sự tồn tại của các chủng. Đây cũng chính là công thức phối trộn chất mang thích hợp nhất cho việc sản xuất chế phẩm sinh học trên nền chất mang khử trùng theo TCVN.

Nghiên cứu tỉ lệ phối trộn chất mang

Trong nghiên cứu này một số yếu tố có ảnh hưởng đáng kể đến mật độ VSV được chọn để nghiên cứu tối ưu hoá. Các biến được lựa chọn dựa trên thành phần môi trường xấp với các mã code và giá trị thực của biến được trình bày ở bảng 3.2.9.

Bảng 3.2.9. Mã hóa các biến số

Các biến số (g/kg)	Mức thấp (-)	Mức cơ bản (0)	Mức cao (+)	Khoảng biến thiên
x ₁ : Hàm lượng than bùn	260	280	300	20
x ₂ : Hàm lượng cao lanh	260	280	300	20
x ₃ : Hàm lượng tinh bột	120	140	160	20

Với các yếu tố đã chọn ở trên, tiến hành xây dựng mô hình thí nghiệm theo phương pháp tổ hợp. Từ **bảng 3.2.9** tiến hành tạo môi trường xấp theo các yếu tố khảo sát. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở **bảng 3.2.10**.

Bảng 3.2.10. Sự biến động mật độ các nhóm VSV trong các công thức

Công thức	Thành phần giá thể			Mật độ các chủng VSV hữu ích trên các giá thể 10 ⁹ (CFU/g)					
	Than bùn	Cao lanh	Tinh bột	<i>A. vinelandii</i> Ab-HT14.2	<i>Ac. diazotrophicus</i> Ac-HT4.2	<i>Az. brasilense</i> As-HT14.1	<i>P. putida</i> VL-HT14.5	<i>A. niger</i> ML-HT4.1	<i>B. subtilis</i> ĐK-HT4.5
1	300	260	140	1,23	1,65	1,76	1,92	1,38	1,65
2	300	280	120	1,35	1,95	1,95	2,25	1,45	2,21
3	280	280	140	0,85	1,37	1,55	1,72	1,34	1,39
4	260	300	140	1,05	1,29	1,80	1,68	1,05	1,49
5	280	300	120	1,11	1,39	1,79	1,81	1,18	1,45
6	280	260	160	1,23	1,62	1,62	1,79	1,15	1,32
7	260	280	160	1,24	1,37	1,55	1,66	1,15	1,27

Kết quả thu được ta thấy công thức 2 cho mật độ VSV đạt cao nhất, suy ra thành phần môi trường xấp tối ưu để sản xuất chế phẩm (g/kg): than bùn 300 g/kg, cao lanh 280 g/kg, tinh bột 120 g/kg, đất 40 g/kg, trấu nghiền 40 g/kg, cám 5 g/kg, ri đường 5 g/kg,

CaCO₃ 10 g/kg, nước + vi lượng 200 ml/kg, vì vậy chúng được lựa chọn để làm giá thể tạo chế phẩm vi sinh đa chức năng cho cây hồ tiêu.

Bước 4. Lựa chọn bao bì bảo quản chế phẩm

Sử dụng bao bì để bao gói, chứa đựng sản phẩm sau quá trình sản xuất là một khâu quan trọng của quá trình tạo sản phẩm. Sản phẩm HOTIEU HTD-03 là một trong các loại sản phẩm được sản xuất bằng công nghệ cao, chứa các nhóm VSV hữu ích, vì vậy việc lựa chọn được loại bao bì phù hợp với sản phẩm sẽ góp phần duy trì chất lượng, kéo dài thời gian sử dụng, tăng cường hiệu quả quảng bá.

(2) Kiểm tra một số đặc tính của bao bì trước khi đóng gói

Từ kết quả trình bày ở **bảng 3.2.11**, tiến hành lựa chọn bao bì nhựa và màng kim loại cho nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 3.1.11. Một số đặc tính của bao bì sử dụng trong bảo quản chế phẩm

Thông số Loại bao bì	Đặc tính cảm quan	Khả năng thẩm thấu oxy	Hàm lượng VSV nhiễm của bao bì (CFU/g)	Có phù hợp không
Thủy tinh	Cứng, khó vận chuyển	Hầu như không thẩm thấu	Không phát hiện	Không phù hợp
Nhựa	Mềm dễ vận chuyển	Thẩm thấu rất ít	10 ¹ - 10 ²	Phù hợp
Bao bì màng ghép kim loại	Mềm dễ vận chuyển	Hầu như không thẩm thấu	5 - 10 ¹	Phù hợp

(2) Ảnh hưởng của các loại bao bì đến số lượng VSV có trong chế phẩm theo thời gian

Ảnh hưởng của các loại bao bì đến số lượng VSV trong bao bì, thí nghiệm được tiến hành bảo quản theo túi đựng 1 kg chế phẩm, ảnh hưởng của các loại bao bì được trình bày ở **bảng 3.2.12**.

Kết quả cho thấy dạng bao bì nhựa và bao bì màng ghép kim loại có sự khác nhau, đối với màng ghép kim loại: đặc tính cảm quan bột tơi, hàm lượng VSV có trong sản phẩm ổn định, có độ đồng đều về sản phẩm, độ ẩm giữ tốt, pH ổn định, đặc biệt số lượng VSV tạp nhiễm thấp. Chính vì vậy màng ghép kim loại được sử dụng cho những nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 3.2.12. Ảnh hưởng của các loại bao bì đến số lượng VSV có trong chế phẩm

Dạng bao bì	Đặc tính cảm quan	Mật độ VSV trong chế phẩm (CFU/g)	Độ đồng đều	Độ ẩm	pH	Hàm lượng VSV tạt nhiễm (CFU/g)
Nhựa	Bột tơi ít	$2,0 \times 10^6$	Không đồng đều	Hơi khô	7,5	$10^2 - 10^3$
Màng ghép kim loại	Bột tơi	$7,2 \times 10^6$	Đồng đều	Ấm đều	7,0	10^1

(7) Ảnh hưởng của độ ẩm chế phẩm đến chất lượng bao bì và sự biến động của VSV có trong chế phẩm

Độ ẩm của chế phẩm cũng ảnh hưởng đến chất lượng chế phẩm bao quản trong bao bì, độ ẩm thấp hay cao quá đều ảnh hưởng đến chất lượng chế phẩm HOTIEU HTD-03.

Bảng 3.2.13. Ảnh hưởng của độ ẩm đến số lượng VSV có trong chế phẩm

Độ ẩm của sản phẩm (%)	Đặc tính cảm quan	Mật độ VSV có trong sản phẩm (CFU/g)	Độ đồng đều của sản phẩm	Độ ẩm	pH	Hàm lượng VSV tạt nhiễm (CFU/g)
15	Bột tơi	$7,2 \times 10^6$	Đồng đều	Ấm đều	7,1	10^1
20	Bột tơi	$4,4 \times 10^6$	Đồng đều	Ấm đều	7,0	10^1
25	Bột tơi kém	$2,6 \times 10^6$	Không đồng đều	Ấm ướt	6,7	10^2

(3) Ảnh hưởng của khối lượng sản phẩm đến số lượng VSV có trong chế phẩm

Bảng 3.2.14. Ảnh hưởng của khối lượng sản phẩm đến số lượng VSV có trong chế phẩm

Khối lượng sản phẩm (g/500)	Đặc tính cảm quan	Mật độ VSV có trong sản phẩm (CFU/g)	Độ đồng đều của sản phẩm	Độ ẩm	pH	Hàm lượng VSV tạt nhiễm (CFU/g)
250	Bột tơi	$3,5 \times 10^6$	Đồng đều	Ấm đều	7,2	10^2
330	Bột tơi	$4,4 \times 10^6$	Đồng đều	Ấm đều	7,1	10^1
450	Bột tơi	$7,2 \times 10^6$	Đồng đều	Ấm đều	7,0	10^1
470	Bột tơi	$5,4 \times 10^6$	Đồng đều	Ấm đều	7,2	10^1

Từ kết quả **bảng 3.2.14** cho thấy lượng chế phẩm đóng trong bao bì nhiều hay ít ảnh hưởng đến chất lượng chế phẩm (số lượng VSV hữu hiệu), với kết quả trên bao bì 500 g chứa 450 g chế phẩm là phù hợp nhất, số lượng VSV là $7,2 \cdot 10^6$

(4) Ảnh hưởng của thời gian đóng gói đến số lượng VSV có trong sản phẩm

Từ kết quả ở **bảng 3.2.15** cho thấy sau 2 năm (24 tháng) chế phẩm HOTIEU HTD-03 đóng gói bằng bao bì màng ghép kim loại, bảo quản nhiệt độ phòng, chế phẩm vẫn đạt trên 10^6 đảm bảo cho chất lượng vi sinh theo TCVN. Như vậy, bao bì chứa chế phẩm HOTIEU HTD-03 được lựa chọn là bao bì màng ghép kim loại, bảo quản ở điều kiện mát, đóng 450 g chế phẩm trong túi 500 g, sau 2 năm (24 tháng) chế phẩm vẫn đạt 10^6 đảm bảo cho chất lượng vi sinh theo TCVN.

Bảng 3.2.15. Ảnh hưởng của thời gian đóng gói đến số lượng VSV có trong sản phẩm

C hỉ tiêu thử nghiệm	Tần số lấy mẫu (tháng)						
	Ba n đầu	3	6	9	12	18	24
Cảm quan	Bộ t toi	B ột toi	B ột toi	B ột toi	B ột toi	B ột toi	B ột toi
Độ ẩm	Á m đều	Á m đều	Á m đều	Á m đều	Á m đều	Á m đều	Á m đều
VSV (CFU/g)	7,4 . 10^6	7, 2. 10^6	7, 1. 10^6	5, 1. 10^6	4, 2. 10^6	3, 5. 10^6	1, 2. 10^6

3.3.2.3. Quy trình sản xuất chế phẩm quy mô 1000 kg/mẻ

Quy trình sản xuất chế phẩm HOTIEU HTD-03 trong canh tác cà phê được thực hiện ở bao gồm các bước sau:

Bước 1: Chuẩn bị dịch nuôi cấy của các chủng VSV

Để sản xuất 1000 kg chế phẩm thì cần 10kg dịch nuôi của mỗi loại VSV, dịch nuôi cấy các chủng VSV được chuẩn bị như sau.

- Lấy các chủng VSV hữu ích thuần khiết, gồm 6 chủng VSV: *Azotobacter vinelandii* Ab-HT 14.2; *Acetobacter diazotrophicus* Ac-HT 4.1; *Azospirillum brasilense* As-HT 14.1; *Pseudomonas putida* VL-HT 14.5; *Aspergillus niger* ML-HT 14.2 và *Bacillus subtilis* ĐK-HT4.5 (các chủng VSV này đều được phân lập từ đất trồng hồ tiêu) từ môi trường thạch nghiêng và nhân giống trên môi trường dịch thể tương ứng: Môi trường Ashby mannitol: *Azotobacter vinelandii* Ab-HT 14.2. Môi trường khoáng (g/l): *Acetobacter diazotrophicus* Ac-HT 4.1. Môi trường Nitrogen-free semisolid malate NFb : *Azospirillum brasilense* As-HT 14.1. Môi trường Gerresen (MT9) : *Pseudomonas putida* VL-HT 14.5. Môi trường PDA

(MT12) : *A. niger* ML-HT 14.2. Môi trường Tryptic Soy Agar TSA (MT11) : *Bacillus subtilis* ĐK- HT4.5.

- Các bình giống được nuôi cấy trong hệ thống lên men (sử dụng hệ thống lên men 20 lít) tuần hoàn khí liên tục ở nhiệt độ 30°C trong thời gian 3 ngày để tạo ra dịch nuôi cho mỗi loại VSV, khi mật độ tế bào đạt khoảng 10^7 - 10^9 CFU/ml thì cấy vào môi trường nuôi cấy xốp.

Bước 2: Chuẩn bị môi trường nuôi cấy xốp (hỗn hợp chất mang) bằng cách: phối trộn cao lanh, than bùn, trấu nghiền, cám, bột sắn, đường kính, vôi bột, nước + chất dinh dưỡng đa vi lượng (gồm K_2HPO_4 , $MgSO_4$ và $NaCl$ phối trộn với nhau theo tỷ lệ 1:1:1). Môi trường nuôi cấy xốp vô trùng là hỗn hợp chất mang được phối trộn từ các thành phần theo tỷ lệ % khối lượng như sau: Môi trường xốp sau khi phối trộn để qua đêm cho vật liệu hút ẩm đều và đồng nhất, khử trùng hỗn hợp chất mang ở nhiệt độ 125°C, áp suất 1,25 at, thời gian 150 phút.

Bước 3: Phối trộn các thành phần để tạo chế phẩm VSV chức năng HOTIEU HTD-03

Bằng cách phối trộn 1% dịch nuôi mỗi loại vào môi trường xốp vô trùng để môi trường đạt độ ẩm khoảng 30%. Sản xuất 1000 kg chế phẩm vi sinh chức năng HOTIEU HTD-03, tỷ lệ phối trộn cụ thể như sau:

- 10kg dịch nuôi cấy *Azotobacter vinelandii* Ab-HT14.2 được phân lập và tuyển chọn từ đất trồng hồ tiêu có mật độ VSV bằng hoặc lớn hơn 10^7 CFU/g;

- 10kg dịch nuôi cấy *Acetobacter diazotrophicus* Ac-HT4.2 được phân lập và tuyển chọn từ đất trồng hồ tiêu có mật độ VSV bằng hoặc lớn hơn 10^7 CFU/g;

- 10kg dịch nuôi cấy *Azospirillum brasilense* As-HT14.1 được phân lập và tuyển chọn từ đất trồng hồ tiêu có mật độ VSV bằng hoặc lớn hơn 10^7 CFU/g;

- 10kg dịch nuôi cấy *Aspergillus niger* ML-HT4.1 được phân lập và tuyển chọn từ đất trồng hồ tiêu có mật độ VSV bằng hoặc lớn hơn 10^7 CFU/g; và

- 10kg dịch nuôi cấy *Bacillus subtilis* ĐK-HT T4.5 được phân lập và tuyển chọn từ đất trồng hồ tiêu có mật độ VSV bằng hoặc lớn hơn 10^7 CFU/g; và

- 950kg hỗn hợp chất mang (hỗn hợp chất mang là môi trường xốp vô trùng có chứa 1% nước đường nồng độ 25%).

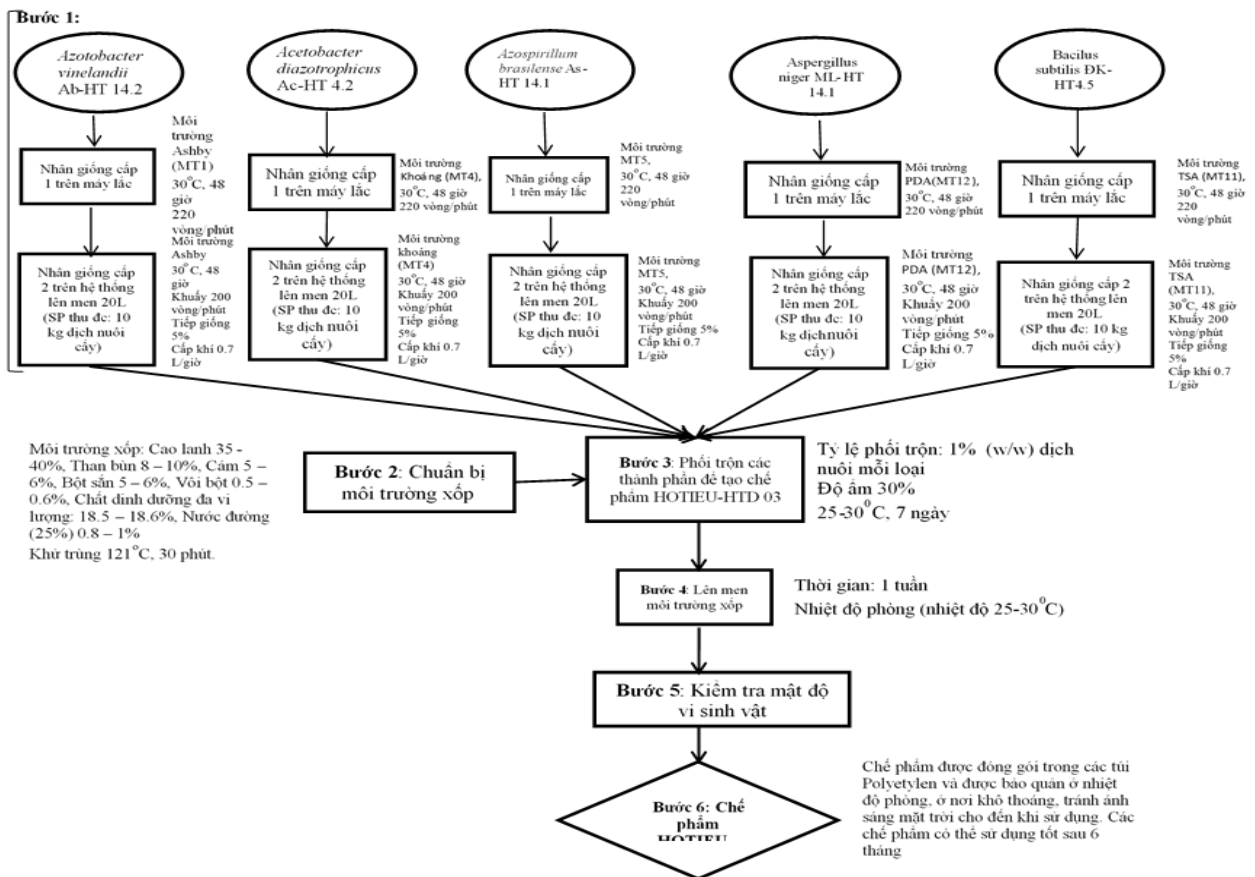
Bước 4: Lên men trong môi trường xốp trong 1 tuần ở nhiệt độ phòng (nhiệt độ 25-30°C).

Bước 5: Kiểm tra mật độ VSV hữu ích trong chế phẩm. Mật độ VSV khi mới cấy đạt 10^6 đến 10^7 tế bào trong 1g chế phẩm. Sau 7-10 ngày giữ ở nhiệt độ phòng, mật độ VSV trong chế phẩm đạt từ 10^7 CFU/g trở lên (TCVN).

Bước 6: Bảo quản: bảo quản chế phẩm ở nhiệt độ phòng, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời cho đến khi sử dụng. Các chế phẩm có thể sử dụng tốt sau 6 tháng bảo quản ở nhiệt độ phòng.

Bảng 3.2.16. Thành phần hỗn hợp chất mang trong 1000 kg môi trường nuôi cấy xốp

TT	Thành phần	Tỷ lệ %	Số lượng cụ thể trong sản xuất 1000 kg môi trường xốp
1	Cao lanh:	35 - 40%	380 kg
2	Than bùn:	20 - 25 %	230 kg
3	Trấu nghiền:	8 - 10%	100 kg
4	Cám:	5 - 6%	55 kg
5	Bột sắn:	5 - 6%	55 kg
6	Vôi bột:	0,5 - 0,6%	6 kg
7	Chất dinh dưỡng đa vi lượng (gồm K ₂ HPO ₄ , MgSO ₄ và NaCl phối trộn với nhau theo tỷ lệ 1:1:1)	18,5 - 18,6%	164 kg
8	Nước đường (nồng độ 25%)	0,8 - 1%	10 kg
9	Nước máy		Bổ sung nước đến khi đạt độ ẩm 30%



Hình 3.2.2. Sơ đồ quy trình sản xuất chế phẩm HOTIEU-HTD-03

3.3.2.4. Xây dựng chỉ tiêu chất lượng của chế phẩm

Chế phẩm được tối ưu hoá thành phần và điều kiện nuôi cấy để mật độ vi sinh đạt từ 10^7 CFU/g trở lên sau 1 tuần cấy vào và đã được theo dõi biến động mật độ VSV theo thời gian bảo quản ở nhiệt độ phòng. Kết quả xác định số lượng VSV trong chế phẩm theo thời gian bảo quản được trình bày ở **bảng 3.2.18**

Khi nghiên cứu khả năng tồn tại của các chủng VSV trong chế phẩm nhận thấy chúng đều sinh trưởng và phát triển tốt trong chế phẩm. Chế phẩm có thể bảo quản trong 6 tháng ở nhiệt độ phòng (đạt mật độ theo tiêu chuẩn ngành Nông nghiệp TCVN 6167-1997, TCVN 6166 : 2002). Hoạt tính sinh học của các chủng cũng không bị mất đi sau thời gian bảo quản.

Bảng 3.2.17. Mật độ VSV trong chế phẩm theo thời gian

Chủng VSV	Mật độ VSV trong chế phẩm (CFU/g)						
	1 tuần	1 tháng	2 tháng	3 tháng	4 tháng	5 tháng	6 tháng
<i>Azotobacter</i>	$0,5 \times 10^9$	$1,25 \times 10^9$	$1,46 \times 10^8$	$1,35 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$	$1,05 \times 10^7$	$0,75 \times 10^7$
<i>Azospirillum</i>	$1,2 \times 10^9$	$3,5 \times 10^9$	$3,8 \times 10^8$	$3,1 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$1,25 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$

<i>Acetobacter</i>	0,92 x10 ⁹	2,35 x10 ⁹	3,1 x10 ⁸	2,15x10 ⁸	1,45 x10 ⁸	1,1 x10 ⁷	1,0 x10 ⁷
VSV phân giải lân tổng số	1,1 x10 ⁹	4,5 x10 ⁹	4,5 x10 ⁸	3,65 x10 ⁸	3,2 x10 ⁸	2,5 x10 ⁷	1,25 x10 ⁷

3.3.2.5. Kết quả đánh giá chất lượng sản phẩm

(2) Đánh giá sự ổn định hoạt tính, mật độ các chủng VSV trong chất mang của chế phẩm HOTIEU HTD-03

Trong chế phẩm VSV chủng giống có ý nghĩa quyết định đối với chất lượng của sản phẩm. Vì vậy các chủng giống phải tuyển chọn sao cho có hoạt tính sinh học cao, có khả năng cạnh tranh để sinh trưởng và hoạt động tốt trong các môi trường sinh thái đất. Đồng thời các chủng phải giữ được hoạt tính qua thời gian bảo quản thì mới đảm bảo được quy trình công nghệ sản xuất tốt và ổn định. Nghiên cứu xác định số lượng VSV từng loài trong chế phẩm đồng thời cũng xác định hoạt tính sơ bộ của chúng. Kết quả cho thấy chủng *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas* và *Aspergillus* có số lượng tương đối ổn định trong khoảng thời gian khảo sát từ một tuần đến 6 tháng đồng thời chúng có các hoạt tính cố định đạm, phân giải lân và sinh chất kích thích sinh trưởng vẫn ổn định trên môi trường xốp thanh trùng. Chế phẩm được tối ưu hoá thành phần và điều kiện nuôi cấy để đạt mật độ từ 10⁷ CFU/g trở lên và đã được theo dõi biến động mật độ VSV theo thời gian bảo quản ở nhiệt độ phòng. Kết quả xác định số lượng VSV trong chế phẩm theo thời gian bảo quản được trình bày ở **bảng 3.2.19**.

Khi nghiên cứu khả năng tồn tại của các chủng VSV trong chế phẩm nhận thấy các chủng trong chế phẩm đều sinh trưởng và phát triển tốt trong nguồn chất mang của chế phẩm. Vì vậy, nghiên cứu này cũng chỉ ra chế phẩm có thể bảo quản tốt nhất trong 24 tháng ở nhiệt độ phòng (đạt mật độ theo tiêu chuẩn ngành Nông nghiệp TCN 6167-1997) và hoạt tính sinh học của các chủng cũng không bị mất đi trong thời gian bảo quản. Vì vậy, chế phẩm HOTIEU HTD-03 cũng được sử dụng tốt nhất trong 6 tháng sau khi sản xuất.

Bảng 3.2.18. Mật độ VSV trong chế phẩm đa chức năng cho cây hồ tiêu HOTIEU HTD-03

Vi sinh vật	Mật độ VSV (x 10 ⁷ CFU/g) trong chế phẩm HOTIEU HTD-03 theo tháng						
	0	3	6	9	12	18	24
<i>Azotobacter</i>	7,3	6,6	4,7	3,4	2,1	1,0	0,8
<i>Azospirillum</i>	7,2	6,9	4,3	3,7	2,3	1,8	1,3
<i>Aspergillus</i>	9,5	8,8	6,2	5,8	4,7	3,8	2,7

Hoạt tính cố định đạm, phân giải lân và sinh chất kích thích sinh trưởng IAA của các

chúng phân lập lại trên các môi trường kiểm tra vẫn ổn định (**bảng 3.2.20**)

Bảng 3.2.19. Hoạt tính của VSV trong chế phẩm theo thời gian

Vi sinh vật	0 tháng	3 tháng	6 tháng	9 tháng	12 tháng	18 tháng	24 tháng
Hoạt tính cố định đạm của VSV trong chế phẩm HOTIEU HTD-03							
<i>Azotobacter</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
<i>Azospirillum</i>	+++	+++	+++	+++	++	++	++
Hoạt tính phân giải lân của VSV trong chế phẩm HOTIEU HTD-03							
<i>Aspergillus</i>	+++	+++	+++	++	++	+	+
Hoạt tính sinh IAA của VSV trong chế phẩm HOTIEU HTD-03							
<i>Azotobacter</i>	++	++	++	++	++	+	+
<i>Azospirillum</i>	+++	++	++	++	++	++	+
<i>Aspergillus</i>	+	+	+	+	+	+	+

Chú thích: Không hoạt tính (-); Hoạt tính yếu (+); Hoạt tính trung bình (++); Hoạt tính mạnh (+++)

Bảng 3.2.20. Số lượng VSV cố định đạm, phân giải lân trong các mẫu thí nghiệm sử dụng chế phẩm HOTIEU HTD-03 tại đất trồng hồ tiêu tại Tây Nguyên

Thành phần VSV	Số lượng VSV, CFU/g đất	
	Mẫu thí nghiệm*	Mẫu đối chứng*
<i>Azotobacter</i>	$8,6 \times 10^5$	$2,5 \times 10^2$
<i>Azospirillum</i>	$2,5 \times 10^5$	KPH
<i>Aspergillus</i>	$6,3 \times 10^5$	$2,5 \times 10^3$

Chú thích: *Mẫu thí nghiệm- Hồ tiêu được bón chế phẩm HOTIEU-HTD03; Mẫu đối chứng – Hồ tiêu không được bón chế phẩm; KPH - Không phát hiện

Khả năng tồn tại của các loài VSV của chế phẩm trong hệ sinh thái đất và rễ cây của vùng canh tác. Kết quả trình bày trong bảng 3.2.21

Kết quả trên bảng 3.2.21 chỉ ra các mẫu đất được phân tích có mật độ các nhóm VSV chức năng khác nhau. Trong lô đối chứng không bón chế phẩm vi sinh số lượng VSV đa chức năng rất thấp hoặc không có, ngược lại trong mẫu đất thí nghiệm bón chế phẩm vi sinh đa chức năng số lượng vi sinh cố định đạm và phân giải lân tăng mạnh. vì vậy, trong vùng đất trồng cây cà phê này nếu được bón bằng phân VSV đa chức năng năng suất cây trồng cũng như độ màu của đất sẽ được cải thiện. Kết quả này cũng lần nữa khẳng định chế phẩm HOTIEU HTD-03 luôn ổn định về thành phần loài VSV trong chế phẩm đồng thời chúng cũng rất phù hợp với khu hệ sinh thái đất và rễ cây hồ tiêu.

3.3.2.6. Đề xuất giá thành sản phẩm

Quy mô công nghệ: 1.000 kg chế phẩm HOTIEU HTD-03 /mẻ

-Thời gian chuẩn bị thiết bị và nhân giống: 36 giờ đối với VK; 96 giờ đối với nấm

mốc.

-Thời gian lên men: 36 ÷ 96 giờ/mẻ

-Tổng cộng thời gian thực hiện quy trình: 96 giờ/mẻ

Tính toán giá thành sản phẩm (tính cho quy mô lên men cho 1 tấn chế phẩm HOTIEU HTD-03).

Bảng 3.2.21. Tổng hợp chi phí cho sản xuất 1 tấn chế phẩm

Hạng mục chi	Số tiền (VNĐ)
Hóa chất làm môi trường (1)	8.620.000
Chi phí vật liệu chất mang cho sản phẩm(2)	6.510.000
Vật tư tiêu hao (3)	3.500.000
Điện nước năng lượng (4)	3.075.000
Chi phí nhân công và quản lý chung (5)	12.835.000
Chi phí công nghệ và khấu hao thiết bị ước tính khoảng 25% giá thành (6)	8.635.000
Chi phí kho bảo quản vận chuyển	825.000
Giá thành sản phẩm trước thuế	44.000.000
Thuế giá trị gia tăng 10%	4.400.000
Tổng giá thành sản phẩm xuất xưởng	48.400.000

Vậy giá thành cho 1 kg chế phẩm HOTIEU HTD-03 khoảng 48.400 VNĐ/kg.

Sản phẩm có thể bán với giá thành từ 50.000- 60.000 VNĐ/kg.

3.3.2.7. Sản xuất 7 tấn chế phẩm

Sau khi nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất và đánh giá chất lượng chế phẩm VSV chức năng HOTIEU HTD-03, nhóm nghiên cứu đã tiến hành sản xuất chế phẩm để phục vụ nghiên cứu khảo nghiệm, xây dựng quy trình sử dụng, quy trình tích hợp các chế phẩm sinh hóa học và mô hình trình diễn. Kết quả trong 2018-2019 đã tiến hành sản xuất được 7 tấn chế phẩm HOTIEU HTD-03, sản phẩm được bàn giao cho các đơn vị thực hiện các nội dung tiếp theo.

3.3.2.8. Đăng ký chứng nhận hợp quy chuẩn kỹ thuật cho chế phẩm HOTIEU HTD-03

Sau khi hoàn thiện qui trình sản xuất chế phẩm HOTIEU HTD-03 ở quy mô pilot. Nhóm nghiên cứu đã tiến hành xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và chuẩn hoá chất cho chế phẩm

HOTIEU HTD-03. Kết quả sản phẩm được công bố tiêu chuẩn chất lượng sản phẩm hàng hóa theo số Quyết định 03/2020/TCCS-CNC ký ngày 8/1/2020.

3.3.3. Nghiên cứu khảo nghiệm đánh giá tác dụng đối với cây hồ tiêu

3.3.3.1. Kết quả khảo nghiệm diện hẹp

a) *Nhận xét tình hình sinh trưởng, phát triển của cây trồng trong thí nghiệm:*

Chế phẩm HOTIEU HTD-03 ảnh hưởng đến sinh trưởng phát triển của cây hồ tiêu theo hướng tích cực. Về mặt cảm quan nhận thấy, ô thí nghiệm có lá xanh dày bóng hơn so với ô đối chứng, các chỉ số như số cặp cành/cây, chiều dài cành tăng cao hơn so với đối chứng và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê.

* Đối với cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh 4,5 năm tuổi: Vườn hồ tiêu giai đoạn KTCB do cây đang giai đoạn sung sức nên khả năng sinh trưởng cành lá thông qua các chỉ tiêu: số lượng cành thứ cấp, chiều dài cành, số đốt ... tăng lên.

- Chiều dài cành cấp 1 và đường kính tán: HOTIEU HTD-03 đã cải thiện khả năng sinh trưởng hồ tiêu 4,5 năm tuổi thông qua chiều dài cành và đường kính tán. Trước thí nghiệm chiều dài cành cấp 1 (những cành sẽ cho cành cấp 2 và 3) khá đồng đều (chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê) nhưng sau 7 tháng và 10 tháng sự tăng lên về chiều dài cành đã tăng lên đáng kể và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Đồng thời đường kính tán cũng khác biệt đáng kể. CT_{ht1} và CT_{ht2} đã khác biệt khá xa với CT_{ht5} và CT_{ht4} cụ thể, chỉ số tăng chiều dài cành ở các công thức CT_{ht1} và CT_{ht2} lần lượt là 41cm và 38,33 cm cao hơn 2 công thức CT_{ht5} và CT_{ht4} chỉ đạt 35,00 cm và 31,83 cm sau 10 tháng thí nghiệm. Tương tự đường kính tán ở 2 công thức CT_{ht1} và CT_{ht2} lần lượt là 105 cm và 93 cm cao hơn 2 công thức CT_{ht5} và CT_{ht4} chỉ đạt 82 cm và 74 cm sau 10 tháng thí nghiệm. Như vậy, HOTIEU HTD-03 đã tăng chiều dài cành và đường kính tán sau một năm thí nghiệm.

- Số đốt/cành thứ cấp: Số đốt/cành thứ cấp phản ánh tốc độ ra lá và gián tiếp phản ánh số gié/cành (nếu cây sinh trưởng tốt, mỗi mắt lá cho 1 gié – tức 1 chùm quả). Số đốt/cành thứ cấp khác nhau ở các công thức thí nghiệm và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Kết quả cho thấy, số đốt/cành thứ cấp tăng mạnh nhất ở công thức sử dụng chế phẩm ủ với phân chuồng 1 tháng trước khi bón. Ở công thức này, số đốt/cành thứ cấp thu được là 12,67 cao hơn rất nhiều so với công thức đối chứng chỉ đạt 7,33. Đặc biệt ở công thức CT_{ht2} sử dụng chế phẩm ủ với phân chuồng đồng thời giảm 15% lượng phân bón vô cơ thì chỉ số này (đạt

11 đót/cành thứ cấp) vẫn cao hơn ở công thức đối chứng. Như vậy HOTIEU HTD-03 đã tăng sự hình thành đót tức là số lá/cành; đây là cơ sở để tăng số gié/cành.

* Đối với cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh 16 năm tuổi: Đối với vườn hồ tiêu KD đường kính tán khá ổn định, thay đổi không đáng kể; chiều dài cành (cả cành cấp 1 và cành thứ cấp) cũng không biến động lớn. Sự khác biệt chủ yếu là chiều dài cành thứ cấp và số đót/cành thứ cấp.

- Chiều dài cành cấp 1 và đường kính tán: Thời điểm tháng 4/2018 (trước khi sử dụng HOTIEU HTD-03) và tháng 8/2018 sự khác biệt chiều dài cành giữa các công thức chưa có ý nghĩa thống kê nhưng vào tháng 11/2018 và tháng 2/2019 sự khác biệt đã có ý nghĩa thống kê; cao nhất thuộc CT_{ht}1 và CT_{ht} 2. Đường kính trụ tán hồ tiêu có tác dụng tương tự chiều dài cành thứ cấp. Như vậy HOTIEU HTD-03 đã tăng chiều dài cành thứ cấp và đường kính tán.

- Số đót/cành thứ cấp tăng trưởng khác nhau ở các công thức thí nghiệm khác nhau và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết quả cho thấy, chỉ số này tăng mạnh ở công thức sử dụng chế phẩm ủ với phân chuồng 1 tháng trước khi bón với 8 đót/cành thứ cấp, tiếp đến là công thức ủ với phân chuồng 1 tháng trước khi bón đồng thời giảm 15% lượng phân bón hóa học là 7,3 đót/cành thứ cấp. Công thức đối chứng cho số đót/cành thứ cấp thấp nhất chỉ đạt 5,8 số đót/cành thứ cấp. Kết quả này phản ánh ảnh hưởng của chế phẩm HOTIEU HTD-03 đã giúp gia tăng số đót/cành thứ cấp, cơ sở để có nhiều gié quả hơn.

b) *Các yếu tố cấu thành năng suất và bội thu năng suất:*

Chiều dài gié (chùm quả) và số lượng quả (hạt)/gié có quan hệ với nhau và tác động trực tiếp đến năng suất.

Rụng gié là đặc điểm sinh lý thường thấy của cây hồ tiêu, đó là cơ chế tự điều chỉnh khả năng mang quả của cây. Hiện tượng rụng gié xảy ra liên tục từ khi gié được hình thành đến khi thu hoạch. Rụng gié xảy ra mạnh khi thiếu hụt hoặc mất cân đối về các khoáng dinh dưỡng ở các thời kỳ sinh trưởng khác nhau.

- Đối với vườn hồ tiêu 4,5 năm tuổi : Sự khác biệt về chiều dài gié giữa các công thức không có ý nghĩa thống kê, nhưng số quả/gié và tỷ lệ rụng có ý nghĩa thống kê. Kết quả cho thấy số quả/gié cao nhất ở công thức sử dụng chế phẩm ủ với phân chuồng trước khi bón, chỉ số này vẫn cao hơn các công thức khác cả khi giảm 15% phân hóa học. Tương tự, tỷ lệ rụng

gié cũng giảm mạnh nhất ở 2 công thức 1 và 2 khi sử dụng chế phẩm ủ với phân chuồng. Như vậy, HOTIEU-HTTD03 đã làm tăng số quả/gié và giảm tỷ lệ rụng gié đáng kể.

Năng suất hồ tiêu tươi và năng suất khô đều tăng ở các CT có sử dụng HOTIEU HTD-03 từ 10 đến 20% ; với tỷ lệ tươi/khô khoảng 2,5 lần. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê, cao nhất ở CT_{th1} và CT_{ht} 2. Như vậy dù có giảm lượng phân vô cơ 15%, năng suất hồ tiêu giảm không đáng kể.

- Đối với vườn 16 năm tuổi: Vườn hồ tiêu kinh doanh lâu năm có chiều dài gié ngắn hơn vườn KD 4,5 năm, có thể khi cây đã nhiều năm sức sinh trưởng của gié không bằng vườn KTCB, mặt khác giá bán hồ tiêu từ năm 2017 đến nay đều thấp (giảm giá rất sâu) nên người nông dân ít tập trung đầu tư, chăm sóc hồ tiêu. Tuy nhiên HOTIEU HTD-03 đã cải thiện chiều dài gié ; sự khác biệt giữa CT_{th1} và CT_{ht2} có ý nghĩa thống kê với 3 CT còn lại. Số quả (hạt)/gié cũng không cao, chỉ có CT_{th1} và CT_{ht2} có số hạt > 30 hạt/gié – đây là mức không cao ; các CT khác đều dưới 30 hạt/gié. Tuy nhiên HOTIEU HTD-03 đã cải thiện số hạt/gié ở 2 CT_{th1} và CT_{ht2}. HOTIEU HTD-03 cũng đã làm giảm tỷ lệ rụng gié ở CT_{th1} và CT_{ht2}, giảm từ 29,1% ở công thức đối chứng xuống còn 22,7 và 23,6%.

Tương tự như vườn hồ tiêu 4,5 năm tuổi, các chỉ tiêu năng suất và chất lượng hồ tiêu đều được gia tăng đáng kể khi sử dụng HOTIEU HTD-03 và tất cả 4 chỉ sự khác biệt đều có ý nghĩa thống kê. Chỉ tiêu hạt lép, năng suất tươi, năng suất khô và dung trọng hạt đều cao nhất thuộc CT_{ht} 1. Nếu không sử dụng HOTIEU HTD-03 dung trọng hạt chưa đạt 500 g/lit hạt (CT_{ht} 5-đ/c).

Cả 2 loại vườn, chế phẩm HOTIEU HTD-03 đều cải thiện năng suất, công thức tốt nhất là ủ với phân chuồng trước khi bón 1 tháng.

c) *Hiệu quả kinh tế của chế phẩm khảo nghiệm:*

Sử dụng chế phẩm HOTIEU HTD-03 kết hợp phân chuồng đã tăng số lãi 26 đến 27 triệu đồng đối với hồ tiêu giai đoạn 4,5 năm tuổi; đồng thời tỷ suất lợi nhuận trên 8,8 là điều kiện giúp người trồng hồ tiêu đầu tư có hiệu quả, chưa kể giảm được chi phí bảo vệ thực vật.

Đối với hồ tiêu giai đoạn kinh doanh 16 năm tuổi sử dụng HOTIEU HTD-03 có lãi hơn đối chứng khá cao từ 75 triệu đến 121 triệu và tỷ suất lợi nhuận trên 14 lần. Vườn hồ tiêu kinh doanh (trên 16 năm) tình trạng vườn cây đã thoái hoá xuống cấp cả cây lẫn đất.

Kết hợp với giá bán hồ tiêu năm 2019 rất thấp (chỉ 34.000 đ/kg). Đạt được lợi nhuận và tỷ suất lợi nhuận trên là điều kiện để đầu tư vườn cây tốt hơn.

d) *Đánh giá tính chất đất được cải thiện, khả năng làm tăng miễn dịch cây trồng đối với chế phẩm có chất cải tạo đất, phân bón có tác dụng làm tăng miễn dịch cho cây trồng:*

* Đối với vườn hồ tiêu giai đoạn 4,5 năm tuổi:

- Chế phẩm HOTIEU HTD-03 đã cải tạo các chỉ tiêu nông hoá đất theo hướng tốt hơn, nhưng mức độ không cao, chưa tạo ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, trừ lân dễ tiêu và kali dễ tiêu. pH_{KCl} có tăng nhẹ, tốt nhất CT_{ht1} nhưng bản thân đất đã có $pH > 5,3$ là độ pH khá tốt cho hồ tiêu. Đa số đất trồng cây công nghiệp của Tây Nguyên thường có pH xung quanh 4,5, thậm chí thấp hơn. Các chỉ tiêu N tổng số, P tổng số và K tổng số chưa tạo ra sự khác biệt giữa các công thức. Riêng hàm lượng P dễ tiêu và K dễ tiêu ở CT_{ht1} tăng khá so với trước thí nghiệm và các công thức khác (các chỉ tiêu đạt lần lượt là 9,35 mg/100 gam đất P dễ tiêu và 11 mg/100 gam đất K dễ tiêu so với công thức đối chứng chỉ đạt 5,6 mg/100 gam đất P dễ tiêu và 9,1 mg/100 gam đất K dễ tiêu). Về mặt sinh học đất, chế phẩm ủ phân chuồng trước khi bón làm giảm mạnh số lượng tuyến trùng trong đất từ mật độ 700 con/100 gam đất giảm xuống dưới 100 con/100 gam đất.

- Trước thí nghiệm, cây bị bệnh vàng lá chết chậm, u sưng rễ dẫn đến chết chậm và rệp sáp. Tỷ lệ cây bị sâu bệnh giảm ở các công thức sử dụng chế phẩm HOTIEU HTD-03. Cụ thể diễn biến từng sâu bệnh như sau:

Thời điểm trước thí nghiệm, bệnh vàng lá chết chậm tương đối cao ($>18\%$) và tiếp tục tăng lên (công thức CT_{ht5}). Phân tích thống kê cho thấy, chỉ tháng 4/2018 sự khác biệt của các công thức chưa có ý nghĩa thống kê, còn tháng 10/2018 và tháng 4/2019 tỷ lệ bệnh vàng lá khác biệt có ý nghĩa thống kê, tỷ lệ cây bị bệnh vàng lá chết chậm giảm tốt nhất là CT_{ht1} và CT_{ht2} . Chứng tỏ chế phẩm HOTIEU HTD-03 có khả năng hạn chế bệnh vàng lá trên hồ tiêu và hiệu quả nhất là trộn và ủ với phân chuồng 01 tháng trước khi bón.

Liên quan tới bệnh vàng lá, triệu chứng biểu hiện phân rễ là u sưng rễ - là kết quả tuyến trùng tấn công vào rễ, Trước thí nghiệm (tháng 4/2018) số cây và số rễ bị u sưng khá cao ($>10\%$), sau 6 tháng sử dụng HOTIEU HTD-03 đã giảm đáng kể số cây và số rễ bị u sưng, trong khi công thức CT_{ht5} tỷ lệ cây bị u sưng rễ vẫn tăng. Kết quả rõ nhất là số lượng tuyến trùng trong đất-nguồn gốc của u sưng rễ; từ số lượng tuyến trùng xấp xỉ 700 con/100 g đất,

các công thức CT_{ht1}, CT_{ht2} và CT_{ht3} đã giảm hẳn; riêng công thức CT_{ht4} không thay đổi đáng kể và CT_{ht5} có xu hướng tăng. Như vậy, HOTIEU HTD-03 cũng có tác dụng làm giảm số lượng tuyến trùng trong đất và giảm tỷ lệ u sung rễ. Rệp sáp là đối tượng sâu nguy hiểm đối với hồ tiêu. Rệp sáp sinh sản và chích hút rễ, có thể lan lên thân. Tốc độ sinh sản rệp sáp khá nhanh, nó chích hút làm bộ rễ suy kiệt, điều kiện cho các VSV gây hại tấn công; nếu số lượng quá lớn làm “măng sông” rễ, tức làm mất vỏ rễ.

Trước khi sử dụng HOTIEU HTD-03 (tháng 4/2018) số cây bị rệp sáp khá cao (>8%) và mỗi gốc có hàng trăm con, tất cả các ô thí nghiệm đều bị. Sau 4 tháng sử dụng HOTIEU HTD-03, các công thức đều giảm số lượng cây có rệp sáp, trừ CT_{ht5}. Sau 12 tháng tiếp tục giảm số cây bị rệp sáp, trừ CT_{ht5}. Sự khác biệt trên có ý nghĩa thống kê ở cả 2 thời điểm (tháng 8/2018 và tháng 4/2019); tốt nhất là công thức CT_{ht1}, CT_{ht2} và CT_{ht3}. Đồng thời số lượng rệp sáp trên mỗi gốc đều giảm (từ >100 con/gốc còn chưa quá 20 con/gốc). Với tỷ lệ cây bị rệp sáp <5% và số lượng cá thể thấp hơn 20 con/gốc chưa cần dùng các biện pháp phòng trừ bằng thuốc hoá học và thực tế thí nghiệm quy định không dùng thuốc hoá học trong phòng trừ bệnh hồ tiêu trong thời gian thí nghiệm. Như vậy, chế phẩm HOTIEU HTD-03 đã có tác dụng làm giảm rệp sáp trên hồ tiêu và cách tốt nhất là trộn ủ với phân chuồng trước khi bón 1 tháng.

* Đối với hồ tiêu giai đoạn kinh doanh:

- Tương tự như vườn hồ tiêu KD 4,5 năm, chế phẩm HOTIEU HTD-03 đã cải tạo các đặc tính nông hoá đất nhưng mức độ chưa cao, trừ CT_{ht1} đối với 2 chỉ tiêu P dễ tiêu và K dễ tiêu.

- Đối với vườn hồ tiêu giai đoạn kinh doanh 16 năm tuổi, chế phẩm HOTIEU HTD-03 cũng có tác dụng hạn chế bệnh vàng lá chết chậm. Vào thời điểm tháng 4/2018 (trước khi sử dụng chế phẩm) vườn hồ tiêu kinh doanh có tỷ lệ nhiễm bệnh thấp hơn đáng kể (10/18%) nhưng hiệu quả chế phẩm vẫn thể hiện rõ; tác dụng rõ nhất ở 3 CT : CT_{ht1}, CT_{ht2} và CT_{ht3} ; trong đó CT_{ht1} và CT_{ht2} là tốt nhất, giảm ½ số cây bị bệnh. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Riêng CT_{ht4} (có sử dụng HOTIEU HTD-03) nhưng chưa thể hiện tác dụng. Vườn hồ tiêu KD bị u sung rễ và số lượng tuyến trùng trong đất cao hơn vườn kinh doanh 4,5 năm tuổi, mặc dù 2 vườn khá gần nhau, có thể khi trồng hồ tiêu nếu không có biện pháp bón phân và xử lý đất số lượng tuyến trùng và các VSV gây bệnh u sung tăng

lên. Sau 6 tháng sử dụng HOTIEU HTD-03 đã giảm đáng kể số cây có rễ bị u sưng và số lượng tuyến trùng trong đất. Tỷ lệ cây bị u sưng giảm gần 50% đối với CT_{ht} 1 và CT_{ht}2; sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. So với vườn hồ tiêu KTCB, vườn KD có số cây bị rệp sáp hại rễ cao hơn và số con rệp sáp/gốc cũng cao hơn. Chế phẩm HOTIEU HTD-03 đã có tác dụng hạn chế số lượng rệp sáp và tỷ lệ cây hồ tiêu nhiễm rệp sáp rõ nhất ở các CT: CT_{ht}1, CT_{ht}2 và CT_{ht}3 ; sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. CT_{ht} 4 chưa thể hiện rõ tác dụng; nếu không sử dụng chế phẩm HOTIEU HTD-03 tỷ lệ cây bị rệp sáp tăng lên (CT_{ht}5-đ/c). Như vậy chế phẩm HOTIEU HTD-03 có tác dụng hạn chế cây hồ tiêu bị rệp sáp, tốt nhất là CT_{ht}1 và CT_{ht}2.

3.3.3.2. Kết quả khảo nghiệm diện rộng

a) *Nhận xét tình hình sinh trưởng, phát triển của cây trồng trong thí nghiệm:*

- Đối với vườn hồ tiêu 4,5 năm tuổi: Rụng gié là đặc điểm sinh lý thường thấy của cây hồ tiêu, đó là cơ chế tự điều chỉnh khả năng mang quả của cây. Hiện tượng rụng gié xảy ra liên tục từ khi gié được hình thành đến khi thu hoạch. Rụng gié xảy ra mạnh khi thiếu hụt hoặc mất cân đối về các khoáng dinh dưỡng ở các thời kỳ sinh trưởng khác nhau. HOTIEU HTD-03 đã làm tăng số quả/gié (tăng 8 hạt/gié) và giảm tỷ lệ rụng gié đáng kể (12%). Điều này góp phần tăng năng suất.

- Đối với vườn hồ tiêu giai đoạn kinh doanh 16 năm tuổi: Đối với vườn hồ tiêu giai đoạn này đường kính tán khá ổn định, thay đổi không đáng kể; chiều dài cành (cả cành cấp 1 và cành thứ cấp) cũng không biến động lớn. Sự khác biệt chủ yếu là số lượng cành thứ cấp và số đốt/cành thứ cấp, số đốt/cành thứ cấp có thể là kết quả bón phân theo công thức thí nghiệm. Kết quả khảo nghiệm cho thấy, công thức bón chế phẩm ủ với phân chuồng 1 tháng trước khi bón có tác dụng tích cực tới chỉ số số lượng cành thứ cấp và số đốt/cành thứ cấp, số đốt/cành thứ cấp. Số lượng cành thứ cấp tăng lên 31,4 cành/cây ở ô thí nghiệm so với 27,8 cành/cây ở ô đối chứng. Số đốt/cành thứ cấp ở ô thí nghiệm đạt 7,8 so với 5,7 ở ô đối chứng. Chiều dài tán tăng lần lượt ở ô thí nghiệm và ô đối chứng 116 cm và 99 cm. Như vậy, chế phẩm HOTIEU HTD-03 đã giúp gia số lượng cành thứ cấp và số đốt/cành thứ cấp, số đốt/cành thứ cấp.

b) *Các yếu tố cấu thành năng suất và bội thu năng suất:*

- Đối với vườn hồ tiêu 4,5 năm tuổi: Đối với tỷ lệ hạt lép: các công thức có sử dụng HOTIEU HTD-03 đã giảm tỷ lệ hạt lép từ 6,9% còn 5,2% ; sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê mức 99%. Hạt lép do nhiều nguyên nhân, trong đó liên quan đến chế độ tưới nước và đầu tư phân bón. Từ năm 2016 giá bán hồ tiêu giảm nên người nông dân đã giảm đầu tư phân bón cho vườn. Năng suất hồ tiêu (tươi) và năng suất khô đều tăng ở các HT_{KT}TN có sử dụng HOTIEU HTD-03 từ 10 đến 20%; với tỷ lệ tươi/khô khoảng 2,5 lần. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Như vậy dù có giảm lượng phân vô cơ 15%, năng suất hồ tiêu giảm không đáng kể. Năng suất khô tăng 2,76 tấn/ha ở công thức đối chứng lên 3,45 tấn/ha, tăng 1,25 lần.

- Đối với vườn hồ tiêu giai đoạn kinh doanh 16 năm tuổi: HOTIEU HTD-03 đã cải thiện chiều dài gié, tăng 1 mm cho mỗi gié; sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê (99%).

Số quả (hạt)/gié cũng không cao, ở công thức thí nghiệm có số hạt > 30 hạt/gié – đây là mức không cao; Công thức đối chứng chỉ dưới chỉ 27,6 hạt/gié. Như vậy HOTIEU HTD-03 đã cải thiện số hạt/gié.

Chỉ tiêu hạt lép, năng suất tươi, năng suất khô và dung trọng hạt đều cao hơn ở công thức thí nghiệm. Do đó, năng suất thu được ở công thức thí nghiệm đã tăng 3,3 tấn/ha ở công thức đối chứng lên 4,5 tấn/ha, tăng 1,15 lần.

c) *Hiệu quả kinh tế của chế phẩm khảo nghiệm*

- Sử dụng chế phẩm HOTIEU HTD-03 kết hợp phân chuồng đã tăng số lãi 43 triệu đồng đối với hồ tiêu giai đoạn KTCB; đồng thời tỷ suất lợi nhuận trên 7,2 là điều kiện giúp người trồng hồ tiêu đầu tư có hiệu quả, chưa kể giảm được chi phí bảo vệ thực vật. Từ năm 2016 đến nay (2019) giá bán hồ tiêu quá thấp (hiện nay giá bán chỉ 44.000 đ/kg so với năm 2015 giá bán 180.000 – 200.000 đ/kg) nên đa số nông dân không đầu tư phân bón và chăm sóc vườn hồ tiêu..

- Đối với hồ tiêu kinh doanh sử dụng HOTIEU HTD-03 có lãi hơn đ/c khá cao từ 83 triệu và tỷ suất lợi nhuận trên 13,9 lần. Vườn hồ tiêu kinh doanh (trên 15 năm) tình trạng vườn cây đã thoái hoá xuống cấp cả cây lẫn đất. Kết hợp với giá bán hồ tiêu năm 2019 rất thấp (chỉ 44.000 đ/kg). Đạt được lợi nhuận và tỷ suất lợi nhuận trên là điều kiện để đầu tư vườn cây tốt hơn.

e) *Đánh giá tính chất đất được cải thiện, khả năng làm tăng miễn dịch cây trồng:*

- Đối với cây hồ tiêu giai đoạn 4,5 năm tuổi :

Chế phẩm HOTIEU HTD-03 đã cải tạo các chỉ tiêu nông hoá đất theo hướng tốt hơn, nhưng mức độ không cao, chưa tạo ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, trừ lân dễ tiêu và kali dễ tiêu. pH_{KCl} có tăng nhẹ, tốt nhất CT_{ht} TN nhưng bản thân đất đã có $pH > 5,3$ là độ pH khá tốt cho hồ tiêu. Đa số đất trồng cây công nghiệp của Tây Nguyên thường có pH xung quanh 4,5, thậm chí thấp hơn. Hàm lượng hữu cơ của công thức CT_{ht} TN có tăng nhẹ, cao hơn CT_{ht} ĐC. Các chỉ tiêu N tổng số, P tổng số và K tổng số chưa tạo ra sự khác biệt giữa các công thức. Riêng hàm lượng P dễ tiêu và K dễ tiêu ở CT_{ht} TN tăng khá so với trước thí nghiệm và các công thức khác (xấp xỉ 1 và 0,5 mg/100 gam đất) chứng tỏ khả năng phân giải lân khó tiêu của HOTIEU HTD-03.

Diễn biến sâu bệnh hại vườn hồ tiêu 4,5 năm tuổi sau 1 năm sử dụng chế phẩm, kết quả cho thấy các công thức thí nghiệm sử dụng chế phẩm HOTIEU HTD-03 ủ với phân chuồng hoại mục trước khi bón đều làm giảm có tỷ lệ gây hại sâu bệnh, trong khi ở công thức đối chứng chỉ sử dụng phân chuồng không bổ sung chế phẩm thì tỷ lệ cây bị bệnh hại tăng lên. Cụ thể, Trước khi sử dụng HOTIEU HTD-03 (tháng 4/2018) số cây bị rệp sáp khá cao (>8%) và mỗi gốc có hàng trăm con, tất cả các ô thí nghiệm đều bị. Sau 4 tháng sử dụng HOTIEU HTD-03 CT_{ht} TN đã giảm số lượng cây có rệp sáp, trừ CT_{ht} ĐC. Sau 12 tháng tiếp tục giảm số cây bị rệp sáp, trừ CT_{ht} ĐC. Sự khác biệt trên có ý nghĩa thống kê ở mức cao cả 2 thời điểm (tháng 8/2018 và tháng 4/2019). Đồng thời số lượng rệp sáp trên mỗi gốc đều giảm (từ >100 con/gốc còn chưa quá 20 con/gốc). Với tỷ lệ cây bị rệp sáp <5% và số lượng cá thể thấp hơn 20 con/gốc chưa cần dùng các biện pháp phòng trừ bằng thuốc hoá học và thực tế thí nghiệm quy định không dùng thuốc hoá học trong phòng trừ bệnh hồ tiêu trong thời gian thí nghiệm. Tương tự, Trước thí nghiệm (tháng 4/2018) số cây và số rễ bị u sưng khá cao (>13%), sau 6 tháng sử dụng HOTIEU HTD-03 đã giảm đáng kể số cây và số rễ bị u sưng, trong khi công thức HT_{KT} ĐC tỷ lệ cây bị u sưng rễ vẫn tăng. Kết quả rõ nhất là số lượng tuyến trùng trong đất-nguồn gốc của u sưng rễ; số lượng tuyến trùng khá cao 720 – 810 con/100 g đất. Vùng đất và vườn cây thí nghiệm đã bị vàng lá từ nhiều năm trước, thể hiện qua số lượng tuyến trùng. Sau 6 tháng sử dụng HOTIEU HTD-03 đã giảm hẳn 2 chỉ tiêu: u sưng rễ và số lượng tuyến trùng trong đất: công thức HT_{KT} TN đã giảm hẳn 8,6% u sưng và 150 con tuyến trùng trong 100 gam đất; trong khi CT_{ht} ĐC có xu hướng tăng. Sự khác biệt trên có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy cao (99,9 %). Như vậy HOTIEU

HTD-03 đã giảm số lượng tuyến trùng trong đất và giảm tỷ lệ u sưng rễ. Ngoài ra, chế phẩm HOTIEU HTD-03 còn có khả năng hạn chế bệnh vàng lá trên hồ tiêu và hiệu quả nhất là trộn và ủ với phân chuồng 01 tháng trước khi bón.

- Đối với cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh:

Kết quả khảo nghiệm cho thấy, ở công thức sử dụng chế phẩm HOTIEU HTD-03 sau một năm thì tỷ lệ cây bị rệp, số lượng con/cây giảm mạnh. Tỷ lệ cây bị các bệnh vàng lá chết chậm, bệnh u sưng rễ chết chậm cũng giảm mạnh ở các công thức sử dụng chế phẩm ủ với phân chuồng trước khi bón 1 tháng. Ở công thức thí nghiệm, tỷ lệ cây bị bệnh vàng lá chết chậm giảm chỉ còn 3,9% so với đối chứng là 19,3%. Tỷ lệ cây bị rệp sáp cũng giảm còn 5,8% so với 20,5% ở ô đối chứng. Tương tự, bệnh u sưng rễ chết chậm cũng giảm sau 6 tháng sử dụng HOTIEU HTD-03. Tỷ lệ cây bị u sưng giảm gần 50% trong khi rễ bị u sưng và số lượng tuyến trùng tăng lên ở công thức đối chứng. Điều này cho thấy, sử dụng chế phẩm HOTIEU HTD-03 đã có tác dụng tăng sức đề kháng cho cây, tác dụng giảm tỷ lệ cây bị rệp sáp, giảm tỷ lệ cây bị bệnh vàng lá, bệnh u sưng rễ chết chậm.

Khảo nghiệm chế phẩm VSV hữu hiệu HOTIEU HTD-03 cho vườn hồ tiêu cho kết quả:

- Đã cải thiện thành phần dinh dưỡng đất, tăng các chỉ tiêu lân dễ tiêu và kali dễ tiêu.
- Tăng khả năng sinh trưởng hồ tiêu qua các chỉ tiêu: Chiều dài cành cơ bản, đường kính tán, số đốt/cành thứ cấp.
- Tăng các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất: tăng chiều dài gié, số quả/gié, giảm tỷ lệ rụng gié; tăng năng suất tươi và năng suất khô, gia tăng dung trọng hạt.
- Giảm một số sâu bệnh cho vườn hồ tiêu: giảm số cây bị rệp và số lượng rệp sáp trên cây, giảm tỷ lệ cây bị u sưng rễ và tuyến trùng trong đất; giảm tỷ lệ bệnh vàng lá chết chậm.
- Sử dụng chế phẩm HOTIEU HTD-03 cho hồ tiêu đã thể hiện hiệu quả kinh tế: giảm 15% phân bón vô cơ nhưng năng suất nhân của công thức thí nghiệm tăng rõ rệt so với công thức đối chứng.

3.3.3.3. Quy trình và hướng dẫn sử dụng chế phẩm HOTIEU HTD-03 cho cây hồ tiêu

Từ kết quả khảo nghiệm diện hẹp và diện rộng trên cây hồ tiêu kiến thiết, đề xuất hướng dẫn sử dụng chế phẩm như sau:

+ *Liều lượng sử dụng:*

- 30 kg chế phẩm HOTIEU HTD-03 dùng cho 1 ha hồ tiêu.

- Giảm 15% lượng phân hóa học trong canh tác hồ tiêu so với quy trình chăm sóc áp dụng theo quyết định ban hành số 730/QĐ-BNN-TT ngày 5/3/2015 của bộ NN&PTNT khi không sử dụng chế phẩm CAFE HTD-01.

+ *Thời điểm sử dụng chế phẩm*

- Chế phẩm sử dụng 1 lần duy nhất trong 1 vụ canh tác hồ tiêu.

- Bón vào thời điểm tháng 4-5 (đầu mùa mưa). Khi bón phân cần đào rãnh dọc theo 1 bên thành bồn rộng 20 cm, sâu 25 - 30 cm và lấp đất lại.

+ *Phương pháp sử dụng chế phẩm*

- Phương pháp sử dụng: chế phẩm HOTIEU HTD-03 ủ với phân chuồng hoai mục hoặc phân hữu cơ hoai mục ủ từ phế thải đồng ruộng, ủ 1 tháng trước khi bón.

- Phương thức ủ gồm các bước:

Bước 1: Chuẩn bị nguyên liệu: (định lượng tính cho 1 tấn phân chuồng hoai mục).

- Mỗi gói chế phẩm HOTIEU HTD-03 có khối lượng 5 kg

- 2 kg phân NPK

- 3 tấn phân chuồng

- Rỉ đường: 1 kg

- Nước tưới để đạt độ ẩm 55-60% (không sử dụng nước máy để ủ)

1 ha hồ tiêu cần 30 kg chế phẩm HOTIEU HTD-03, như vậy lượng phân chuồng hoai mục cần và đủ cho 1 ha hồ tiêu (mật độ 1.100 cây/ha) khoảng 5,5 tấn.

Bước 2: Chọn nơi ủ

Nơi ủ: khô ráo, có thể ủ trên nền xi măng hoặc đất nền lót bằng vải nilon, trong nhà kho, chuồng nuôi không còn sử dụng. Tạo rãnh xung quanh cho nước thừa trong quá trình tưới nước tạo ẩm khi ủ. Diện tích nền khoảng 3 m²/1 tấn nguyên liệu ủ.

Bước 3: Chuẩn bị dụng cụ

- Bình tưới ozoa, cào, cuốc, xẻng.

- Vật liệu để làm mái: có thể dùng các loại vật liệu sẵn có như bạt, bao tải, nilon... che đậy và các loại lá để làm mái tránh ánh nắng, giữ nhiệt cho đồng ủ.

Bước 4: Trộn chế phẩm với nguyên liệu ủ

- Hòa 5 kg chế phẩm HOTIEU HTD-03 vào 10 lít nước, (bổ sung 1 kg rỉ đường hoặc không), để thời gian 3÷5 tiếng đồng hồ cho tan đều.

- Trộn dung dịch chế phẩm HOTIEU HTD-03 với các nguyên liệu là phân NPK, phân chuồng
- Tưới nước với hỗn hợp vừa trộn để độ ẩm đạt mức 55-60%.

Bước 5: *Che phủ và bảo quản*

- Sau khi ủ xong, đóng ủ bằng bạt, bao tải dứa hoặc nilon để nhiệt độ đóng ủ được duy trì ở mức 40-50°C.
- Để đảm bảo tốt hơn và tránh ánh nắng trực tiếp đóng ủ nên che thêm tấm che bằng lá hoặc mái lợp.

Bước 6: *Đảo đều và bổ sung nước, không khí*

Sau khi ủ vài ngày nhiệt độ của đống ủ tăng lên cao khoảng 40-50°C. Nhiệt độ này sẽ làm cho nguyên liệu bị khô và không khí cần cho hoạt động của VSV cũng ít dần. Vì vậy, khoảng 7-10 ngày tiến hành kiểm tra, đảo trộn và nếu nguyên liệu khô thì bổ sung thêm nước. Sau khoảng 28 - 30 ngày phân chuồng đã hoại mục, mùn hóa được chế biến làm phân bón hữu cơ. Giai đoạn này, mùn được dùng để bón cây, tăng độ phì cho đất, tăng VSV cố định đạm, phân giải lân, tăng hàm lượng VSV kích thích sinh trưởng cho cây hồ tiêu.

3.4. HOÀN THIỆN CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CHẾ PHẨM POLYFA-TN3

3.4.1. Tình trạng kỹ thuật của chế phẩm trước hoàn thiện

Chế phẩm được hình thành ở quy mô pilot từ đề tài mã số TN3/C10 giai đoạn 2013-2015. Trong các giai đoạn công nghệ (1) Tạo giống, (2) Bảo quản chủng giống, (3) Nhân giống, nhân sinh khối, (4) Thu hồi tạo sản phẩm thì các giai đoạn (3) và (4) sẽ cần hoàn thiện khi nâng cấp sản phẩm từ quy mô pilot lên quy mô công nghiệp.

3.4.2. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất chế phẩm, nâng cấp từ quy mô pilot lên quy mô công nghiệp

Các bước hoàn thiện công nghệ và sản xuất chế phẩm POLYFA TN3 dùng cho cây cà phê và hồ tiêu, được tiến hành như sau:

3.4.2.1. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân giống, nhân sinh khối tạo chế phẩm POLYFA TN3 quy mô công nghiệp

Bước 1. Hoàn thiện quy trình nhân giống các chủng VSV chức năng

Kiểm tra hoạt tính các chủng VSV đã được lựa chọn cho chế phẩm POLYFA TN3 giai đoạn 2013 - 2015

Bảng 3.3.1. Thành phần VSV và hoạt tính của VSV trong chế phẩm

STT	Chủng	Kết tụ sinh học (%)	Tổng hợp IAA ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Cố định đạm ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Phân giải phốt phát (mm)	Kháng <i>F. o</i> (mm)	Kháng <i>R. s</i> (mm)	Phân hủy BVTV (g/l)	MIC _{Fe} (mM)	MIC _{Al} (mM)
1	TI-VP18	-	-	-	12	12	14	-	15	14
2	CF III	-	-	-	-	24	20	-	15	8
3	BX-F9	79,1	-	-	-	-	-	1,0	15	13
4	CF-VP17	-	-	-	11,33	-	13	-	11	11
5	CFB3	-	101,3	17,2	-	11	19	-	14	11
6	Ti6	-	109	13,21	-	8	15	-	10	9
7	CM _{5.11} cdk	-	-	-	-	15	16	-	14	14
8	TiN1	-	-	-	13,67	18,1	11,1	-	13	12
9	N ₁ CS ₁ trk	-	-	-	-	13,6	22,2	-	12	11

Các chủng VSV sau khi hoạt hóa từ tủ -80 °C sẽ được kiểm tra đánh giá lại các hoạt tính như kết tụ sinh học, hoạt tính tổng hợp IAA, cố định đạm, phân giải phốt phát, phân hủy thuốc BVTV, hoạt tính kháng nấm bệnh.

Kết quả cho thấy các chủng vẫn giữ được hoạt tính sau thời gian lưu trữ với các hoạt lực khác nhau trong đó chỉ có BX-F9 có khả năng kết tụ sinh học và phân hủy thuốc BVTV, 2 chủng CFB3 và Ti6 có khả năng tổng hợp IAA và cố định đạm. 3 chủng TI-VP18, CF-VP17 và TiN1 có khả năng phân giải phốt phát. Các chủng lựa chọn hầu hết đều có khả năng kháng nấm bệnh trừ BX-F9 và CF-VP17. Ngoài ra các chủng VSV vẫn giữ được hoạt tính chống chịu sắt, nhôm sau khoảng thời gian lưu trữ trong đó có nồng độ sắt, nhôm cao nhất mà các chủng VSV vẫn có thể sinh trưởng và phát triển được là 14mM Fe²⁺ và 12 mM Al³⁺.

(1) Lựa chọn môi trường nuôi cấy phù hợp cho quá trình lên men chìm các chủng VSV đã lựa chọn

Trong quy mô lên men chìm pilot 70 lít/mẻ đã lựa chọn được môi trường MTBM4.3 cho các chủng VK nghiên cứu. Tuy nhiên trong điều kiện lên men để sản xuất đại trà, cần xác định lại môi trường thích hợp nhất cho sự phát triển của các chủng VK nghiên cứu. Để sản xuất được một lượng lớn chế phẩm VSV, thì lượng hóa chất sử dụng sẽ rất lớn và tốn kém chi phí. Vì vậy, từ môi trường MTBM4.3.0 thử nghiệm 2 phương án như giảm lượng pepton cho vào môi trường (công thức: MTBm4.3.1) và thay ure và pepton trong môi trường bằng mannitol (công thức: MTBm4.3.2, MTBm4.3.3) (). Vì *B. subtilis* TIVP18 và *B. subtilis* CFIII cùng loài nên chọn 1 chủng là *B. subtilis* TIVP18 để nghiên cứu, và đối với 2 chủng *B. megaterium* BXF9 và *B.*

megaterium CF-VP17 cũng cùng 1 loài nên chọn chủng *B. megaterium* BXF9 để làm thí nghiệm lựa chọn công thức môi trường lên men thích hợp. Điều kiện lên men như sau: giống cấp 5 - 7%; nhiệt độ 37°C, tốc độ sục khí như nhau. Sau các khoảng thời gian xác định, dịch nuôi cấy được lấy ra và mật độ VK được xác định trên môi trường MPA. Kết quả được trình bày trên bảng 3.3.2.

Bảng 3.3.2. Ảnh hưởng của thành phần môi trường lên mật độ VK chế phẩm POLYFA TN3

Mật độ VSV (CFU/ml)		Thời gian (giờ)				
		0	30	35	40	48
<i>B. subtilis</i> TIVP18	MTBm4.3.0	4,3x10 ⁵	3,7x10 ⁸	2,5x10 ⁹	3,7x10⁹	1,0x10 ⁹
	MTBm4.3.1	3,0x10 ⁵	4,5x10 ⁷	5,5x10 ⁸	1,0x10 ⁹	4,5 x10 ⁸
	MTBm4.3.2	2,3x10 ⁵	1,5x10 ⁸	1,6x10 ⁹	2,5x10 ⁹	0,8 x10 ⁹
	MTBm4.3.3	2,1x10 ⁵	3,3x10 ⁶	4,9x10 ⁸	1,3x10 ⁹	3,0 x 10 ⁸
<i>B. megaterium</i> BXF9	MTBm4.3.0	5,7x10 ⁵	3,9x10 ⁸	0,8x10 ⁹	3,3x10⁹	1,3x10 ⁹
	MTBm4.3.1	4,1x10 ⁵	4,3x10 ⁷	3,5x10 ⁸	1,0x10 ⁹	3,4x10 ⁸
	MTBm4.3.2	2,9x10 ⁵	1,5x10 ⁸	0,6x10 ⁹	2,5x10 ⁹	0,3x10 ⁹
	MTBm4.3.3	2,3x10 ⁵	5,7x10 ⁷	6,3x10 ⁸	1,0x10 ⁹	3,0x10 ⁸
<i>B. flexus</i> Ti6	MTBm4.3.0	5,3x10 ⁵	1,5x10 ⁷	1,3x10 ⁹	2,7x10⁹	1,0x10 ⁹
	MTBm4.3.1	4,3x10 ⁵	4,5x10 ⁶	4,5x10 ⁸	0,8x10 ⁹	3,7x10 ⁸
	MTBm4.3.2	3,5x10 ⁵	1,5x10 ⁷	0,6x10 ⁹	2,1x10 ⁹	0,3x10 ⁹
	MTBm4.3.3	2,7x10 ⁵	4,5x10 ⁶	6,7x10 ⁸	1,0x10 ⁹	3,5x10 ⁸

Các chủng VK nghiên cứu đều sinh trưởng tốt trong các môi trường nghiên cứu sau khi lên men 35 giờ - 40 giờ và ở môi trường MTBm4.3.0 cho mật độ VSV cao nhất. Khi thay ure bằng manitol trong môi trường lên men, mật độ VK đã có sự giảm đi. MTBm4.3.0 là môi trường thích hợp cho lên men chìm trong quy mô pilot với thiết bị lên men 70 lít/mẻ cho các chủng VK, và trong nghiên cứu này, đây cũng là môi trường cho mật độ VK cao nhất. Vì vậy, môi trường MTBm4.3.0 tiếp tục được lựa chọn là môi trường lên men chìm VK nghiên cứu ở quy mô sản xuất đại trà.

Tương tự, trong lên men chìm ở quy mô pilot với thiết bị lên men 70 lít/mẻ đã lựa chọn được môi trường MTXs1. Tuy nhiên để sản xuất đại trà cần xác định lại môi trường thích hợp nhất cho sự phát triển của chủng XK *Streptomyces diastatochromogenes* CM_{5.11}cdk. Các loại môi trường MTXs1, MTXs2; MTXs3; MTXs4 được sử dụng để lên men chìm XK, giống cấp 5-7%; nhiệt độ 30 °C; tốc độ sục khí 60l/p. Sau các khoảng thời gian xác định, dịch nuôi cấy được lấy ra và mật độ XK được xác định trên môi trường ISP₄ (bảng 3.3.3)

Bảng 3.3.3. Ảnh hưởng của thành phần môi trường lên mật độ XK

Mật độ VSV (CFU/ml)	<i>Streptomyces diastatochromogenes</i> CM _{5.11} cdk				
	Thời gian (giờ)				
	35	40	48	55	60
MTXs1	2,5x10 ⁶	1,3x10 ⁸	1,8x10 ⁹	2,3x10⁹	5,7x10 ⁸
MTXs2	1,3x10 ⁶	4.5x10 ⁷	1,4x10 ⁹	1,6x10 ⁹	6,3x10 ⁸
MTXs3	2,0x10 ⁶	1,5x10 ⁸	1,0x10 ⁹	1,5x10 ⁹	7,2x10 ⁸
MTXs4	1,9x10 ⁶	4.5x10 ⁷	8,0x10 ⁸	9,2x10 ⁸	6,0x10 ⁸

Bảng 3.3.4. Khối lượng tế bào khô sau các khoảng thời gian lên men

Thời gian (giờ)	<i>P. oxalicum</i> TiN1			
	Môi trường			
	MTNp1	MTNp2	MTNp3	MTNp4
24	1,6	1,32	1,58	1,35
48	2,43	1,98	2,39	2,14
72	4,55	4,10	4, 53	4,06
96	5,20	4,67	5,14	4,72
120	4,13	3,77	4,05	3,33

Kết quả trên bảng 3.3.3 cho thấy, môi trường MTXs1 cho mật độ XK sau lên men cao nhất trong số 4 loại môi trường thử nghiệm, đạt 2,3x10⁹ (CFU/ml) và môi trường này cũng đáp ứng yêu cầu: đơn giản, nguồn nguyên liệu có sẵn và rẻ để sử dụng trong sản xuất chế phẩm. Như vậy, môi trường MTXs1 được lựa chọn để lên men chìm trong quá trình sản xuất đại trà XK *Streptomyces diastatochromogenes* CM_{5.11}cdk.

- Chủng vi nấm *Penicilium oxalicum* TiN1 được hoạt hóa và nhân giống trong môi trường Czapeck-Dox, sau đó tiến hành lên men chìm với các môi trường thử nghiệm nhiệt độ lên men 30 °C, tốc độ sục khí 70l/p. Sau các khoảng thời gian xác định, dịch nuôi cấy được lấy ra và khối lượng tế bào khô được xác định (bảng 3.3.4) (Vì *Penicilium oxalicum* TiN1 và *Penicilium oxalicum* N₁CS₁trk thuộc cùng một loài nên lựa chọn chủng *P. oxalicum* TiN1 làm đại diện nghiên cứu). Kết quả trên bảng 3.3.4 cho thấy MTNp1, MTNp3 thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của chủng vi nấm nghiên cứu. Tuy nhiên môi trường MTNp1 cho sinh khối *P.oxalicum* TiN1 nhỉnh hơn so với môi trường MTNp3.

Sau khi thử nghiệm trên các môi trường nuôi cấy khác nhau, đã xác lập được công thức môi trường nuôi cấy cho quá trình lên men chìm các chủng VSV lựa chọn, kết quả như bảng 3.3.5.

Bảng 3.3.5. Công thức môi trường nuôi cấy các chủng VSV được lựa chọn cho quá trình lên men chìm

Chủng giống	Tên môi trường	Thành phần môi trường (g/l)
VK	MTBm4.3.0	Ure 10; pepton 4.41; casein 10.75; Glucoza 5; NaCl 5
XK	MTXs1	Tinh bột khoai tây: 2,0; KNO ₃ : 0,1; NaCl: 0,05; KH ₂ PO ₄ : 0,05; MgSO ₄ .7H ₂ O: 0,05.
Vi nấm	MTNp1	K ₂ O: 1,0; P ₂ O ₅ : 0,5; MgSO ₄ .7H ₂ O: 0,2; NaCl: 0,2; CaCl ₂ : 0,1; FeSO ₄ :0,001; Urea: 10; glucoza: 10

(2) **Xác định thông số lên men phù hợp cho quá trình lên men chìm các chủng VSV đã lựa chọn**

Thông số 1. Xác định hàm lượng phần trăm giống ban đầu

Trong sản xuất chế phẩm sinh học, để sản xuất lượng lớn và sử dụng trong thực tiễn một trong những công đoạn quan trọng là phải xác định được phần trăm giống VSV đưa vào ban đầu vì khi tạo điều kiện lên men tối ưu cho từng loại VSV, nếu có thể xác định tỷ lệ giống đưa vào phù hợp có thể giảm thiểu được chi phí phát sinh cũng như giảm thiểu độc tố do quá trình lên men kéo dài nếu giống đưa vào ít, hoặc giống đưa vào quá nhiều, sự cạnh tranh về các chất dinh dưỡng lớn cũng ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm thu được. Hàm lượng phần trăm giống đưa vào ban đầu được khảo sát từ 1%, 3%, 5%, 7%, 10%, 12%. Và sau các khoảng thời gian nhất định xác định mật độ VK, XK và sinh khối vi nấm sau các khoảng thời gian nuôi cấy. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.3.6.

Bảng 3.3.6. Sinh trưởng của các chủng VSV tuyển chọn thay đổi theo hàm lượng giống

Mật độ VK (CFU/ml)	Thời gian (giờ)	Tỷ lệ giống (%)					
		1%	3%	5%	7%	10%	12%
<i>Bacillus subtilis</i> (TIVP18; CF III)	0	5,2x10 ⁴	1,8x10 ⁵	2,6x10 ⁵	3,7x10 ⁵	5,5x10 ⁵	6,3x10 ⁵
	24	4,4x10 ⁵	2,7x10 ⁶	4,1x10 ⁷	5,6x10 ⁷	6,4x10 ⁷	1,2x10 ⁸
	30	6,7x10 ⁶	1,5x10 ⁷	2,3x10 ⁹	3,1x10 ⁹	4,5x10 ⁹	3,6x10 ⁹
	35	3,1x10 ⁷	5,3x10 ⁸	4,8x10⁹	5,5x10⁹	4,2x10 ⁹	8,4x10 ⁸
	40	7,5x10 ⁷	8,3x10 ⁸	2,4x10 ⁹	4,6x10 ⁹	7,3x10 ⁸	5,1x10 ⁸

	48	8,2x10 ⁷	1,2x10 ⁹	1,4x10 ⁹	6,7x10 ⁸	8,5x10 ⁷	5,7x10 ⁷
<i>Bacillus megaterium</i> (BX-F9; CFB3; CFVP17)	0	5,7x10 ⁴	1,7x10 ⁵	2,9x10 ⁵	4,1x10 ⁵	5,3x10 ⁵	6,8x10 ⁵
	24	4,8x10 ⁵	3,1x10 ⁶	4,4x10 ⁷	6,2x10 ⁷	6,8x10 ⁷	2,4x10 ⁸
	30	7,2x10 ⁶	2,6x10 ⁷	2,8x10 ⁹	4,1x10 ⁹	4,7x10 ⁹	3,1x10 ⁹
	35	3,9x10 ⁷	4,7x10 ⁸	5,3x10⁹	5,8x10⁹	4,6x10 ⁹	7,7x10 ⁸
	40	8,5x10 ⁷	2,3x10 ⁹	5,2x10 ⁹	4,4x10 ⁹	1,5x10 ⁹	4,6x10 ⁸
	48	1,2x10 ⁸	1,5x10 ⁹	2,3x10 ⁹	7,3x10 ⁸	9,2x10 ⁷	6,2x10 ⁷
<i>Bacillus flexus</i> (TiB6)	0	4,2x10 ⁴	1,3x10 ⁵	2,2x10 ⁵	3,1x10 ⁵	4,5x10 ⁵	5,1x10 ⁵
	24	3,6x10 ⁵	2,2x10 ⁶	3,5x10 ⁷	4,7x10 ⁷	5,2x10 ⁷	9,7x10 ⁷
	30	4,7x10 ⁶	9,5x10 ⁷	1,4x10 ⁹	2,3x10 ⁹	3,3x10 ⁹	3,1x10 ⁹
	35	2,3x10 ⁷	4,1x10 ⁸	4,2x10⁹	5,2x10⁹	3,7x10 ⁹	7,7x10 ⁸
	40	5,5x10 ⁷	1,8x10 ⁹	2,9x10 ⁹	7,7x10 ⁸	7,2x10 ⁸	4,6x10 ⁸
	48	6,9x10 ⁷	1,1x10 ⁹	1,2x10 ⁹	6,4x10 ⁸	8,3x10 ⁷	6,1x10 ⁷
Mật độ XK (CFU/ml)	Thời gian (giờ)	Tỷ lệ giống (%)					
		1%	3%	5%	7%	10%	12%
<i>S.diastatochromogenes</i> (CM5.11cdk)	0	6,2x10 ⁴	1,7x10 ⁵	3,1x10 ⁵	4,2x10 ⁵	6,4x10 ⁵	7,5x10 ⁵
	35	8,1x10 ⁵	2,3x10 ⁷	4,8x10 ⁷	5,4x10 ⁷	2,8x10 ⁸	4,6x10 ⁸
	40	6,7x10 ⁶	8,6x10 ⁷	3,3x10 ⁸	4,4x10 ⁸	8,5x10 ⁸	3,2x10 ⁹
	48	6,3x10 ⁷	4,2x10 ⁸	4,3x10⁹	5,6x10⁹	5,1x10 ⁹	8,4x10 ⁸
	55	3,6x10 ⁸	2,8x10 ⁹	4,6x10 ⁹	5,1x10 ⁹	3,8x10 ⁹	6,6x10 ⁸
	60	2,2x10 ⁹	1,4x10 ⁹	3,5x10 ⁹	2,6x10 ⁹	9,2x10 ⁸	8,9x10 ⁷
Sinh khối vi nấm (g/l)	Thời gian (giờ)	Tỷ lệ giống (%)					
		1%	3%	5%	7%	10%	12%
<i>Penicillium oxalicum</i> (N ₁ CS ₁ trk)	0	0,23	0,68	1,13	1,61	2,27	2,71
	48	0,67	1,61	2,47	3,45	3,83	4,06
	72	1,39	2,38	4,87	4,92	5,18	5,11
	96	2,07	3,96	5,19	5,21	5,35	5,25
	120	2,69	4,14	4,46	4,58	4,62	4,51
<i>Penicillium oxalicum</i> (TiN1)	0	0,25	0,73	1,22	1,71	2,50	2,93
	48	0,71	1,74	2,55	3,52	3,95	4,13
	72	1,46	2,52	4,98	5,13	5,21	5,17
	96	2,32	4,07	5,25	5,37	5,43	5,32
	120	2,87	4,18	4,51	4,66	4,87	4,74

Kết quả cho thấy để giảm thiểu chi phí trong sản xuất đại trà mà vẫn đạt hiệu quả mong muốn trong lên men chìm VSV thì hàm lượng giống ban đầu đưa vào thích hợp nhất cho lên men chìm VK và XK là 7%, lên men chìm vi nấm là 10%.

Thông số 2. Xác định thời gian và nhiệt độ lên men thích hợp cho quá trình lên men chìm các chủng VSV đã lựa chọn

Lên men là quá trình nuôi cấy VSV để tạo ra sinh khối (tăng sinh) hoặc thúc đẩy VSV tạo ra sản phẩm trao đổi chất (các hợp chất sinh hóa). Sự sinh trưởng của VSV chịu ảnh hưởng rất lớn của nhiều yếu tố như giống VSV nuôi cấy, pH môi trường, thời gian nuôi cấy... trong đó không thể không nói đến yếu tố nhiệt độ. Để phát triển mỗi một sinh vật phát triển trong một khoảng nhiệt độ và thời gian nhất định. Ngoài khoảng nhiệt độ đó ra VSV sẽ bị hạn chế sự phát triển.

Trong môi trường lên men MTBm4.3.0 ở điều kiện pH 6,8 – 7,0, tốc độ sục khí là 60 lít/phút, tốc độ cánh khuấy là 150 vòng /phút, nhiệt độ lên men cho các chủng VK lựa chọn được khảo sát từ 30 °C, 35 °C, 37 °C, 40 °C với thời gian lên men từ 0 đến 48 giờ.

Tương tự trong môi trường MTXs1, pH 6,5 – 7,0, tốc độ sục khí là 60 lít/phút, tốc độ cánh khuấy là 150 vòng /phút, với thời gian lên men từ 0 giờ đến 60 giờ, bằng phương pháp xác định mật độ VSV trên đĩa thạch ta có thể tìm được nhiệt độ và khoảng thời gian thích hợp nhất cho quá trình lên men XK và VK. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.3.7 cho thấy rằng Bacillus lên men tốt nhất ở nhiệt độ 37 °C, trong khoảng 35 – 40 giờ. Không nên lên men quá 40 °C, vì ở nhiệt độ 40 °C VK vẫn phát triển tốt nhưng đã có dấu hiệu suy giảm khi so sánh với điều kiện lên men ở 37 °C. Tương tự XK *Streptomyces diastatochromogenes* (CM5.11cdk) lên men tốt nhất ở 30 °C, sau 48 – 55 giờ nuôi cấy, mật độ XK đạt $3,6 \times 10^9$ đến $3,9 \times 10^9$. Đối với vi nấm trong cùng một điều kiện lên men trong môi trường MTNp1, pH 6,0 – 6,5, tốc độ sục khí là 70 lít/phút, tốc độ cánh khuấy là 200 vòng /phút, với thời gian lên men từ 24 giờ đến 120 giờ, khi khảo sát ở các nhiệt độ lên men khác nhau 24 °C, 26 °C, 30 °C, 35 °C ta có thể thấy được rõ ràng ảnh hưởng của nhiệt độ lên sự phát triển của vi nấm thông qua sinh khối thu được (bảng 3.3.7).

Bảng 3.3.7. Sinh trưởng của các chủng VSV tuyển chọn theo nhiệt độ và thời gian

Trong khoảng thời gian lên men 72h – 96h, *Penicillium oxalicum* (N₁ CS₁trk, TiN1)

Mật độ VK (CFU/ml)	Thời gian	Nhiệt độ			
		30 °C	35 °C	37 °C	40 °C
<i>Bacillus subtilis</i> (TIVP18; CF III)	0 giờ	3,2x10 ⁵	3,2x10 ⁵	3,2x10 ⁵	3,2x10 ⁵
	24 giờ	8,2x10 ⁶	3,3x10 ⁸	5,2x10 ⁸	6,8x10 ⁷
	30 giờ	4,4x10 ⁷	2,2x10 ⁹	2,5x10 ⁹	3,7x10 ⁸
	35 giờ	6,3x10 ⁷	3,2x10 ⁹	3,5x10 ⁹	5,6x10 ⁸
	40 giờ	1,4x10 ⁸	3,4x10 ⁹	3,7x10⁹	6,7x10 ⁸
	48 giờ	1,2x10 ⁸	2,5x10 ⁹	2,9x10 ⁹	5,1x10 ⁸
<i>Bacillus flexus</i> (TiB6)	0 giờ	2,8x10 ⁵	2,8x10 ⁵	2,8x10 ⁵	2,8x10 ⁵
	24 giờ	6,7x10 ⁶	4,2x10 ⁸	4,6x10 ⁸	5,5x10 ⁷
	30 giờ	4,4x10 ⁷	1,2x10 ⁹	1,5x10 ⁹	3,5x10 ⁸
	35 giờ	4,8x10 ⁷	2,3x10 ⁹	3,3x10 ⁹	5,0x10 ⁸
	40 giờ	1,5x10 ⁸	3,1x10 ⁹	3,8x10⁹	6,7x10 ⁸
	48 giờ	1,0x10 ⁸	1,7x10 ⁹	2,3x10 ⁹	4,6x10 ⁸
<i>Bacillus megaterium</i> (BX-F9; CFB3; CFVP17)	0 giờ	3,4x10 ⁵	3,4x10 ⁵	3,4x10 ⁵	3,4x10 ⁵
	24 giờ	5,9x10 ⁶	3,7x10 ⁸	4,0x10 ⁸	5,1x10 ⁷
	30 giờ	3,6x10 ⁷	9,7x10 ⁸	1,6x10 ⁹	4,7x10 ⁸
	35 giờ	7,2x10 ⁸	4,1x10 ⁹	4,6x10⁹	6,3x10 ⁸
	40 giờ	6,8x10 ⁸	3,6x10 ⁹	4,4x10 ⁹	5,9x10 ⁸
	48 giờ	4,4x10 ⁸	2,8x10 ⁹	3,4x10 ⁹	5,1x10 ⁸
Mật độ XK (CFU/ml)	Thời gian	Nhiệt độ			
		28 °C	30 °C	35 °C	40 °C
<i>Streptomyces</i> <i>diastatochromogenes</i> (CM _{5,11} cdk)	0 giờ	3,7x10 ⁵	3,7x10 ⁵	3,7x10 ⁵	3,7x10 ⁵
	35 giờ	5,3x10 ⁷	6,7x10 ⁷	8,6x10 ⁶	7,7x10 ⁶
	40 giờ	7,3x10 ⁸	1,6x10 ⁹	2,6x10 ⁸	1,2x10 ⁸
	48 giờ	2,2x10 ⁹	3,6x10 ⁹	8,2x10 ⁸	6,7x10 ⁸
	55 giờ	3,2 x10 ⁹	3,9x10⁹	7,7x10 ⁸	6,3x10 ⁸
	60 giờ	6,3x10 ⁸	4,9x10 ⁸	3,5x10 ⁸	7,4x10 ⁷
Sinh khối Vi nấm (g/l)	Thời gian	Nhiệt độ			
		24 °C	26 °C	30 °C	35 °C
<i>Penicillium oxalicum</i> (N ₁ CS ₁ trk)	24 giờ	1,36	1,46	1,41	1,29
	48 giờ	2,17	2,42	2,52	1,89
	72 giờ	5,04	5,48	5,67	4,76
	96 giờ	5,17	5,54	5,92	4,9
	120 giờ	4,83	5,23	5,16	4,52
<i>Penicillium oxalicum</i> (TiN1)	24 giờ	1,25	1,42	1,38	1,31
	48 giờ	2,23	2,44	2,61	1,74
	72 giờ	4,79	5,26	5,34	4,48
	96 giờ	5,12	5,31	5,87	4,86
	120 giờ	4,64	5,05	5,19	4,22

phát triển hơi yếu ở 24 °C, và phát triển tốt ở 26 °C - 30 °C, khi nâng nhiệt độ lên 35 °C, sự phát triển của vi nấm bắt đầu giảm dần.

Thông số 3. Xác định chế độ sục khí thích hợp cho quá trình lên men chìm các chủng VSV đã lựa chọn

Bảng 3.3.8. Sinh trưởng của các chủng VSV tuyển chọn theo lưu lượng khí

Mật độ VK (CFU/ml)	Lưu lượng khí (l/ph)	Thời gian lên men (giờ)					
		0	24	30	35	40	48
<i>Bacillus subtilis</i> (CFIII, TIVP18)	45	1,7x10 ⁴	3,4x10 ⁵	2,5x10 ⁶	3,1x10 ⁶	2,3x10 ⁶	1,2x10 ⁴
	55	1,7x10 ⁴	4,0x10 ⁶	2,3x10 ⁷	4,2x10 ⁶	3,1x10 ⁵	3,2x10 ⁴
	60	1,7x10 ⁴	3,9x10 ⁷	3,7x10 ⁸	2,8x10⁹	3,1x10⁹	2,4x10 ⁸
	65	1,7x10 ⁴	1,4x10 ⁷	3,3x10 ⁸	1,9x10 ⁹	1,1x10 ⁸	1,3x10 ⁷
	70	1,7x10 ⁴	3,0x10 ⁷	4,4x10 ⁸	3,6x10 ⁸	3,4x10 ⁸	3,5x10 ⁷
<i>Bacillus flexus</i> (Ti6)	45	1,1x10 ⁴	1,8x10 ⁵	3,2x10 ⁶	2,5x10 ⁶	2,5x10 ⁵	3,7x10 ⁵
	55	1,2x10 ⁴	1,6x10 ⁷	2,5x10 ⁸	3,3x10 ⁸	1,4x10 ⁸	6,6x10 ⁷
	60	1,2x10 ⁴	2,4x10 ⁷	2,1x10 ⁸	1,4x10⁹	3,0x10⁹	4,2x10 ⁸
	65	1,2x10 ⁴	1,8x10 ⁶	2,7x10 ⁷	1,3x10 ⁸	4,7x10 ⁸	1,5x10 ⁷
	70	1,2x10 ⁴	2,4x10 ⁶	3,6x10 ⁷	2,3x10 ⁸	3,3x10 ⁵	3,4x10 ⁴
<i>Bacillus megaterium</i> (BX-F9, CFB3, CF-VP17)	45	1,6x10 ⁴	3,4x10 ⁵	2,6x10 ⁶	3,4x10 ⁶	2,3x10 ⁶	1,2x10 ⁴
	55	1,6x10 ⁴	4,1x10 ⁶	2,5x10 ⁷	4,5x10 ⁶	3,1x10 ⁵	3,2x10 ⁴
	60	1,7x10 ⁴	3,8x10 ⁷	3,4x10 ⁸	2,3x10⁹	3,1x10⁹	2,4x10 ⁸
	65	1,7x10 ⁴	1,3x10 ⁷	3,3x10 ⁸	1,7x10 ⁹	1,1x10 ⁸	1,3x10 ⁷
	70	1,7x10 ⁴	3,0x10 ⁷	4,5x10 ⁸	3,8x10 ⁸	3,4x10 ⁸	3,5x10 ⁷
Mật độ XK (CFU/ml)	Lưu lượng khí (l/ph)	Thời gian lên men (giờ)					
		0	35	40	48	55	60
<i>Streptomyces diastatochromogenes</i> (CM _{5.11} cdk)	50	1,3x10 ⁴	5,7x10 ⁵	1,8x10 ⁷	3,6x10 ⁷	2,1x10 ⁷	2,5x10 ⁶
	55	1,3x10 ⁴	2,1x10 ⁶	1,6x10 ⁷	3,4x10 ⁸	3,3x10 ⁷	2,3x10 ⁷
	60	1,3x10 ⁴	3,4x10 ⁶	2,4x10 ⁷	6,1x10⁹	5,7x10 ⁹	7,6x10 ⁸
	65	1,3x10 ⁴	1,4x10 ⁶	1,8x10 ⁷	1,9x10 ⁸	1,1x10 ⁸	5,1x10 ⁷
	70	1,3x10 ⁴	3,0x10 ⁶	1,6x10 ⁷	6,1x10 ⁸	2,5x10 ⁸	1,4x10 ⁸
Sinh khối Vi nấm (g/l)	Lưu lượng khí (l/ph)	Thời gian nuôi (giờ)					
		24	48	72	96	120	144
<i>Penicillium oxalicum</i>	50	1,22	2,17	2,67	3,34	3,47	3,43

N ₁ CS ₁ trk	55	1,43	2,34	2,75	3,44	3,29	2,87
	60	1,56	2,52	3,21	4,01	3,48	3,20
	65	1,61	2,58	3,50	4,28	4,21	3,89
	70	1,83	3,06	4,69	4,72	4,34	4,11
	75	2,01	2,83	4,07	4,12	3,43	3,12
<i>Penicilium oxalicum</i> TiN1	50	1,12	2,04	2,74	3,36	3,47	3,32
	55	1,37	2,17	2,88	3,42	3,12	2,83
	60	1,43	2,42	3,41	4,05	3,43	3,21
	65	1,61	2,51	3,73	4,13	4,26	3,85
	70	1,79	2,87	4,74	4,86	4,39	4,14
	75	1,88	2,93	4,04	3,98	3,44	3,16

Đối với nuôi VSV kỵ khí trong quá trình nuôi không cần sục khí, chỉ thỉnh thoảng khuấy trộn còn với VSV hiếu khí phải sục khí liên tục. Nuôi cấy chìm hay nuôi cấy bề sâu dùng môi trường dinh dưỡng lỏng. Chúng VSV được cấy vào môi trường phân tán khắp mọi điểm và tiếp xúc với môi trường dinh dưỡng. Đặc điểm này đòi hỏi trong suốt quá trình nuôi cấy và cung cấp oxy bằng cách sục khí liên tục. Điều này làm cho hệ thống lên men phức tạp đảm bảo vô trùng, cung cấp đủ dinh dưỡng, cung cấp đủ oxy, chịu được áp lực cao...

Chúng VSV sau khi được nhân giống cấp 1 và nhân giống cấp 2 sẽ được bổ sung tỉ lệ giống 7% vào môi trường MTBm4.3.0 (đối với VK), MTxs1 (đối với XK), MTnp1 (đối với vi nấm) trong nồi lên men 100lít, nhiệt độ lên men đặt ở 37 °C (đối với VK), ở 30 °C (đối với XK và vi nấm), tốc độ của cánh khuấy là 150 – 200 vòng/phút. Chế độ sục khí được thử với các lưu lượng khác nhau: 45 - 50 - 55 -60 - 65 - 70 lít không khí/phút. Mật độ VSV sẽ được theo dõi tại các chế độ sục khí khác nhau theo thời gian. Kết quả được trình bày trong bảng 3.3.8

Kết quả theo dõi mật độ VK, XK và sinh khối vi nấm theo các chế độ sục khí khác nhau cho thấy tốc độ sục khí thích hợp để lên men chìm các chủng VK và XK là 60 l/phút, vi nấm là 70 l/phút.

Thông số 4. Xác định tốc độ khuấy thích hợp cho quá trình lên men chìm các chủng VSV đã lựa chọn

Trong lên men chìm cần phải khuấy và sục khí liên tục vì VSV chỉ sử dụng được ôxy hoà

tan trong môi trường. Khí được nén qua một hệ thống lọc sạch tạp trùng, hệ thống này tương đối phức tạp và dễ gây nhiễm cho môi trường nuôi cấy. Vì vậy để VSV phát triển tốt thì việc kiểm soát tốc độ khuấy giúp cho dịch lên men đồng nhất và cấp đủ oxi là vô cùng quan trọng.

Một khi đã xác định được nhiệt độ, thời gian lên men, chế độ sục khí thích hợp cho các chủng VSV sử dụng làm chế phẩm, tiếp tục khảo sát tốc độ khuấy để tối ưu hóa chất lượng VSV đưa vào chế phẩm. Tốc độ khuấy được khảo sát theo dải tốc độ như sau: 50, 100, 150, 200, 250 vòng/phút (v/p). Và sau các khoảng thời gian nhất định xác định mật độ VK, XK và sinh khối vi nấm sau các khoảng thời gian nuôi cấy. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.3.9

Bảng 3.3.9. Sinh trưởng của các chủng VSV tuyển chọn theo tốc độ khuấy

Mật độ VK (CFU/ml)	Tốc độ khuấy (vòng/phút)	Thời gian (giờ)				
		24	30	35	40	48
<i>Bacillus subtilis</i> (CFIII, TIVP18)	50	4,7x10 ⁵	2,3x10 ⁶	1,6x10 ⁷	3,3x10 ⁷	1,2x10 ⁸
	100	1,2x10 ⁶	4,9x10 ⁷	3,4x10 ⁸	1,5x10 ⁸	5,6x10 ⁷
	150	2,4x10 ⁶	8,7x10 ⁸	3,9x10⁹	4,3x10⁹	5,3x10 ⁸
	200	2,7x10 ⁶	4,3x10 ⁸	2,5x10 ⁹	1,9x10 ⁹	2,6x10 ⁸
	250	2,5x10 ⁶	3,3x10 ⁸	3,3x10 ⁹	1,6x10 ⁹	3,7x10 ⁸
<i>Bacillus megaterium</i> (BX-F9, CFB3, CFVP17)	50	1,5x10 ⁵	2,0x10 ⁶	2,7x10 ⁷	4,1x10 ⁷	3,0x10 ⁸
	100	2,5x10 ⁶	4,1x10 ⁷	3,7x10 ⁸	4,5x10 ⁸	3,1x10 ⁷
	150	4,4x10 ⁶	6,4x10 ⁸	2,8x10⁹	3,5x10⁹	1,2x10 ⁹
	200	2,6x10 ⁶	3,1x10 ⁸	1,9x10 ⁸	3,1x10 ⁹	2,0x10 ⁹
	250	1,5x10 ⁶	3,3x10 ⁸	2,1x10 ⁹	9,3x10 ⁸	7,4x10 ⁸
<i>Bacillus flexus</i> (Ti6)	50	1,3x10 ⁵	5,1x10 ⁶	6,4x10 ⁷	2,3x10 ⁷	1,5x10 ⁸
	100	2,1x10 ⁶	4,1x10 ⁸	2,7x10 ⁹	1,5x10 ⁹	2,7x10 ⁸
	150	1,3x10 ⁶	4,7x10 ⁸	4,6x10⁹	3,2x10⁹	8,7x10 ⁸
	200	1,0x10 ⁶	2,5x10 ⁸	9,4x10 ⁸	2,3x10 ⁹	2,5x10 ⁸
	250v/p	2,1x10 ⁶	1,8x10 ⁹	2,2x10 ⁹	8,0x10 ⁸	6,6x10 ⁸
Mật độ XK (CFU/ml)	Tốc độ khuấy (vòng/phút)	Thời gian (giờ)				
		35	40	48	55	60
<i>Streptomyces diastatochromogenes</i> (CM5.11cdk)	50	2,4x10 ⁶	4,4x10 ⁶	5,1x10 ⁷	1,8x10 ⁸	1,2x10 ⁸
	100	3,1x10 ⁶	1,5x10 ⁷	5,8x10 ⁸	1,2x10 ⁹	2,4x10 ⁹
	150	2,4x10 ⁸	8,5x10 ⁸	2,4x10⁹	3,9x10⁹	5,6x10 ⁸
	200	3,3x10 ⁸	1,5x10 ⁹	3,0x10 ⁹	7,3x10 ⁸	2,4x10 ⁸
	250	3,6x10 ⁸	1,1x10 ⁹	3,2x10 ⁹	5,6x10 ⁸	1,3x10 ⁸
Sinh khối Vi nấm (g/l)	Tốc độ khuấy (vòng/phút)	Thời gian (giờ)				

		48	72	96	120	144
<i>Penicilium oxalicum</i> N ₁ CS ₁ trk	100	1,45	2,52	2,64	2,73	2,86
	150	2,19	3,21	3,46	3,84	4,02
	200	2,36	4,86	5,29	4,37	4,16
	250	2,41	4,28	4,52	4,09	3,87
	270	2,54	4,65	4,43	3,96	3,32
<i>Penicilium oxalicum</i> TiN1	100	1,24	2,35	2,53	2,67	2,78
	150	2,07	3,13	3,37	3,41	3,93
	200	2,30	4,71	5,05	4,22	4,06
	250	2,45	4,32	4,74	3,73	3,67
	270	2,51	4,26	4,13	3,64	3,03

Kết quả theo dõi mật độ VK, XK và sinh khối vi nấm theo các tốc độ khuấy khác nhau cho thấy tốc độ khuấy thích hợp để lên men chìm các chủng VK và XK là 150 vòng/phút, vi nấm là 200 vòng/phút.

Thông số 5. Thu hồi sinh khối

Sau khi lên men chìm, sinh khối thường được thu lại để phục vụ cho việc sản xuất chế phẩm. Vì vậy, việc thu hồi sinh khối hiệu quả cũng là một trong những giai đoạn rất quan trọng trong việc sản xuất các chế phẩm sinh học nói chung và phân bón sinh học nói riêng.

Các chủng VSV được nhân giống cấp 1 và cấp 2, và được lên men chìm riêng lẻ. Dịch lên men của các chủng sẽ được bổ sung pentovit và diatomit với các nồng độ khác nhau, sau đó được ly tâm bằng thiết bị ly tâm cỡ lớn với vận tốc 4000 vòng/ phút trong khoảng 10 phút. Dịch sau khi ly tâm sẽ được sử dụng để kiểm tra mật độ VK để đánh giá hiệu suất thu hồi sinh khối. Mật độ VK trong dịch sau ly tâm càng lớn thì hiệu suất thu hồi sinh khối càng thấp.

Bảng 3.3.10. Mật độ của VSV trong dịch sau ly tâm (CFU/ml)

Chủng	Diatomit (g/L)					Pentovit (g/L)				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
VK CFIII	65	41	12	5	4	67	49	14	8	6
VK TIVP18	56	30	6	3	2	62	41	13	7	6
VK BX-F9	69	45	15	8	6	78	49	14	9	8
VK CFB3	66	40	13	6	5	72	46	17	10	8
VK Ti6	67	44	17	7	5	85	53	19	13	10

VK CF-VP17	57	37	12	5	4	68	51	18	12	9
XK CM _{5.11} cdk	71	48	19	7	5	75	51	23	11	9
Vi nấm NICS1trk	68	41	17	5	4	69	45	19	7	6
Vi nấm TiN1	66	42	15	5	4	67	44	18	8	7

Kết quả bảng 3.3.10 cho thấy, mật độ VSV trong dịch sau ly tâm khi bổ sung diatomit vào môi trường nuôi cấy trước khi ly tâm thấp hơn so với bổ sung pentovit, nghĩa là hiệu suất thu hồi sinh khối khi bổ sung diatomit vào môi trường trước khi ly tâm tốt hơn bổ sung pentovit. Kết quả cho thấy hiệu suất thu hồi sinh khối đạt cao nhất khi bổ sung 4-5 g/l diatomit vào môi trường nuôi cấy trước khi ly tâm.

Như vậy, thông số thích hợp cho quy trình công nghệ lên men chìm các chủng VSV lựa chọn ở quy mô sản xuất đại trà như sau:

- Đối với các chủng VK thuộc chi *Bacillus*: môi trường MTBm4.3.0; giống cấp ban đầu là 7%; nhiệt độ lên men 35 °C – 37 °C; pH 6,8 – 7,0; khuấy 150 vòng/phút; nạp khí 60 lít/phút; thời gian lên men 35 - 40 giờ.
- Đối với chủng XK *Streptomyces diastatochromogenes* CM_{5.11}cdk: môi trường MTXs1; giống cấp ban đầu là 7%; nhiệt độ lên men 30 °C; pH 6,5 – 7,0; khuấy 150 vòng/phút; nạp khí 60 lít/phút; thời gian lên men 48 - 55 giờ.
- Đối với chủng vi nấm *Penicilium oxalicum* N₁CS₁trk ,TiN1: môi trường MTNp1; giống cấp ban đầu là 10%; nhiệt độ lên men 30 °C; pH 6,0 – 6,5; khuấy 200 vòng/phút; nạp khí 70 lít/phút; thời gian lên men 72 – 96 giờ.

Bước 2. Hoàn thiện quy trình lên men bề mặt tạo chế phẩm VSV gốc

(1) Xác định thành phần cơ chất cho lên men bề mặt trong hệ thống nuôi lên men tuần hoàn khí 4m³

Các chủng VK và XK lựa chọn để sản xuất chế phẩm vi sinh sau khi lên men riêng rẽ từng loại, sinh khối mỗi chủng được thu lại và trộn 10% giống với các thành phần cơ chất như đã nêu trên phần phương pháp và bổ sung thêm vào các muối (%): (NH₄)₂SO₄: 0,10; MgSO₄.7H₂O: 0,20; MnSO₄.7H₂O: 0,25; Lân: 0,50; sau đó trải lên các khay inox với độ dày của môi trường từ 4-8 cm, để trong tủ lên men có dung tích 5m x 1m x 1,5m.

Mật độ của VSV được xác định sau 38 giờ (đối với VK) và 48 giờ (đối với XK) lên men. Kết quả xác định mật độ VSV được thể hiện ở bảng 3.3.11.

So sánh các công thức nghiên cứu trên bảng 3.3.11 cho thấy công thức môi trường CTLMvx2 với thành phần cơ chất tương ứng cho mật độ VSV cao nhất ở cả 3 loài VK *Bacillus subtilis* **7,3x10⁷**, *Bacillus megaterium* **7,6x10⁷**, *Bacillus flexus* **5,7x10⁷** và XK *S. Diastatochromogenes* **4,3x10⁷** nghiên cứu. Vì vậy, chọn môi trường CTLMvx2 để lên men bề mặt các chủng VK; XK tuyển chọn và sử dụng cho nghiên cứu các thông số khác cũng như sản xuất chế phẩm vi sinh sau này.

Bảng 3.3.11. Ảnh hưởng của thành phần cơ chất lên sinh khối VSV nghiên cứu (CFU/g)

Công thức	<i>B. subtilis</i> TIVP18	<i>B. megaterium</i> BX-F9	<i>B. flexus</i> Ti6	<i>S. diastatochromogenes</i> CM5.11 cdk
CTLMvx1	1,5x10 ⁷	6,3x10 ⁶	4,3x10 ⁶	3,6x10 ⁶
CTLMvx2	7,3x10⁷	7,6x10⁷	5,7x10⁷	4,3x10⁷
CTLMvx3	7,4x10 ⁶	4,7x10 ⁶	1,0x10 ⁶	0,8x10 ⁷
CTLMvx4	2,7x10 ⁶	1,0x10 ⁶	1,5x10 ⁶	1,3x10 ⁶

Theo tài liệu của Sở Nghiên cứu phân bón thuộc Viện Di truyền nông nghiệp Trung Quốc, loài VK *Bacillus subtilis* được nghiên cứu sử dụng trong việc sản xuất chế phẩm vi sinh vì chúng có nhiều ứng dụng hữu ích đối với cây trồng như khả năng kháng nấm bệnh cao, phân giải P khó tan được sử dụng để tạo chế phẩm bón cho lúa, ngô làm tăng năng suất 10%. Ngoài ra, phân lân sinh học còn có tác dụng tốt đối với môi trường, làm giàu mùn cho đất, tăng khả năng hấp thụ P đối với cây trồng.

Các chế phẩm sinh học của Viện Sinh học nhiệt đới như BIO-F, chế phẩm sinh học chứa các VSV do nhóm phân lập và tuyển chọn: XK *Streptomyces* sp., VK *Bacillus* sp. Những VSV này trong chế phẩm sinh học có tác dụng phân hủy nhanh các hợp chất hữu cơ trong phân lợn, gà và bò, gây mất mùi hôi. Trước đó, chế phẩm này đã được sử dụng thành công phân bón hữu cơ vi sinh từ bùn đáy ao, vỏ cà phê và xử lý rác thải sinh hoạt.

Tuy nhiên, VSV không chỉ phát triển trên bề mặt môi trường, nơi ngăn cách pha rắn (môi trường) và pha khí (không khí) mà còn phát triển trên bề mặt của các hạt môi trường nằm hẳn trong lòng môi trường. Môi trường nuôi cấy vừa có độ xốp cao và vừa phải có độ ẩm thích hợp. Nếu độ ẩm quá cao sẽ làm bết môi trường lại, không khí không thể xâm nhập vào trong lòng môi trường. Nếu sử dụng cám làm nguyên liệu chính để lên men bề mặt VSV, thường người ta cho thêm trấu vào để làm xốp môi trường, tạo điều kiện thuận lợi

không khí dễ xâm nhập vào lòng môi trường.

Vi nấm *P. oxalicum* N₁CS₁trk và *P. oxalicum* TiN1 được lên men với các cơ chất theo công thức đã nêu trên phần phương pháp trong tủ lên men có dung tích 5m x 1m x 1,5m, với khay inox có độ dày của các lớp môi trường từ 4- 8 cm. Mật độ của VSV được xác định sau thời gian 120 - 168 giờ lên men. Kết quả nhận được dưới bảng 3.3.12.

Bảng 3.3.12. Ảnh hưởng của thành phần cơ chất lên sinh khối vi nấm *P. oxalicum* N₁CS₁trk và *P. oxalicum* TiN1 sau 120 giờ lên men(CFU/g)

STT	Công thức	Mật độ <i>P.oxalicum</i> N ₁ CS ₁ trk (CFU/g)	<i>P. oxalicum</i> TiN1 (CFU/g)
1	CTLMnp1	5,7x10 ⁶	6,3x10 ⁶
2	CTLMnp2	3,5x10 ⁷	4,0x10 ⁶
3	CTLMnp3	7,3x10⁷	7,7x10⁷
4	CTLMnp4	2,3x10 ⁶	5,3x10 ⁶

Có thể thấy cả 4 công thức trên bảng 3.3.12 đều cho mật độ nấm *Penicilium oxalicum* khá cao sau lên men. Tuy nhiên, trong các công thức trên thì công thức CTLMnp3 (Cám gạo (55%) + cám ngô (39%) + trấu (5%) + lactose (1%)) cho kết quả cao nhất, đạt 7,3x10⁷ CFU/g sau 120h lên men đối với chủng *P. oxalicum* N₁CS₁trk và 7,7x10⁷ CFU/g sau 120h lên men đối với chủng *P. oxalicum* TiN1. Vì vậy, CTLMnp3 được lựa chọn để lên men xộp nấm *Penicilium oxalicum* làm chế phẩm vi sinh.

(2) Lựa chọn pH và nhiệt độ của quy trình lên men bề mặt

Bảng 3.3.13. Mật độ của các chủng VK theo pH (CFU/g)

Thời gian (giờ)		24	30	40	44	48
<i>B. subtilis</i> TIVP18	pH : 5 - 6	3,7x10 ³	1,9x10 ⁴	3,3x10 ⁴	3,5x10 ⁵	4,7x10 ⁵
	pH: 6 – 6,8	6,0x10 ⁶	1,5x10 ⁷	3,3x10 ⁷	3,7x10 ⁷	4,3x10 ⁷
	pH: 6,8 - 7	5,7x10 ⁷	1,5x10 ⁷	6,7x10⁸	4,3x10⁸	3,0x10 ⁸
	pH: 7 – 7,5	3,2x10 ⁶	2,4x10 ⁶	2,3x10 ⁶	4,3x10 ⁶	2,0x10 ⁶
	pH: 7,5-8,0	3,3x10 ⁴	4,7x10 ⁴	4,7x10 ⁵	2,3x10 ⁴	1,3x10 ⁴
<i>Bacillus flexus</i>	pH : 5 - 6	3,7x10 ⁴	5,0x10 ⁵	4,1x10 ⁶	5,5x10 ⁷	2,7x10 ⁶
	pH: 6 – 6,8	3,0x10 ⁶	3,3x10 ⁷	1,5x10 ⁷	3,7x10 ⁷	2,3x10 ⁷
	pH: 6,8 - 7	3,5x10 ⁷	3,3x10 ⁷	7,5x10⁸	2,7x10⁹	6,3x10 ⁸
	pH: 7 – 7,5	3,3x10 ⁶	3,5x10 ⁷	1,7x10 ⁶	2,3x10 ⁶	3,5x10 ⁶
	pH: 7,5-8,0	2,3x10 ⁴	1,3x10 ⁵	3,2x10 ⁶	2,3 x10 ⁵	1,5x10 ⁵
	pH : 5 – 6	2,3x10 ⁴	3,1x10 ⁴	5,3x10 ⁵	3,3x10 ⁵	4,7x10 ⁴

<i>B.megaterium</i> BXF9	pH: 6 – 6,8	4,3x10 ⁵	3,1x10 ⁶	2,5x10 ⁸	2,8x10 ⁸	3,3x10 ⁸
	pH: 6,8 - 7	4,1x10 ⁶	4,1x10 ⁷	3,1x10⁸	6,0x10⁸	4,2x10 ⁸
	pH: 7 – 7,5	1,5x10 ⁶	3,7x10 ⁷	1,5x10 ⁸	1,3x10 ⁸	2,5x10 ⁷
	pH: 7,5-8,0	4,3x10 ⁴	1,7x10 ⁵	1,3x10 ⁶	5,3x10 ⁶	2,5x10 ⁵

Các chủng VK nghiên cứu sau khi lên men bề mặt, sinh khối sau khi thu được bổ sung 5-10% giống vào khay ủ với các cơ chất đã nêu ở phần phương pháp trong buồng lên men 4m³. pH được thử với các khoảng giá trị tương đối: 5 - 6; 6 – 6,8; 6,8 - 7; 7 – 7,5; 7,5 – 8. Vì *B. subtilis* TIVP18 và *B. subtilis* CFIII cùng loài nên chọn 1 chủng là *B. subtilis* TIVP18 để khảo sát pH, và đối với 2 chủng *B. megaterium* BXF9 và *B. megaterium* CF-vp17 cũng cùng 1 loài nên chọn chủng *B. megaterium* BXF9 để khảo sát.

Kết quả xác định mật độ CFU/g được trình bày trong bảng 3.3.13 cho thấy : khi lên men xộp các chủng VSV nghiên cứu, các điều kiện nhiệt độ, pH thích hợp cho lên men hầu như không thay đổi, tuy nhiên thời gian lên men có kéo dài hơn. Như vậy, pH thích hợp nhất cho lên men xộp các chủng VK nghiên cứu đều là 6,8-7.

- **Xác định pH lên men thích hợp cho chủng XK nghiên cứu**

Chủng XK *S. diastatochromogenes* CS_{5.11cdk} được nhân giống cấp 1, cấp 2 và lên men chìm, sau đó bổ sung tỉ lệ giống 5-10% vào khay ủ trong buồng nhân giống 4m³ với các thành phần cơ chất đã nêu trên phần phương pháp. Chế độ thổi khí 600l/ph; nhiệt độ lên men đặt ở 30 °C. pH được thử với các khoảng giá trị tương đối: 6,0-6,5; 6,5-6,8; 6,8-7; 7-7,5. Kết quả xác định mật độ CFU/g được trình bày trong bảng 3.3.14 cho thấy pH thích hợp cho lên men xộp chủng XK nghiên cứu là từ 6,8-7.

Bảng 3.3.14. Mật độ của XK *S. diastatochromogenes* CS_{5.11cdk} theo pH (CFU/g)

Thời gian (giờ)		37	40	48	55	60	72
Mật độ (CFU/ml)	pH: 6,0-6,5	3,1x10 ⁴	6,3x10 ⁴	1,1x10 ⁵	3,2x10 ⁶	3,3x10 ⁵	0,8x10 ⁵
	pH : 6,5-6,8	1,7x10 ⁶	1,0x10 ⁷	2,1x10 ⁸	1,5x10 ⁸	7,5x10 ⁷	2,8x10 ⁷
	pH : 6,8 - 7	3,1x10 ⁶	1,5x10 ⁷	2,3x10 ⁸	5,1x10⁸	4,3x10 ⁸	2,3x10 ⁸
	pH : 7-7,5	4,2x10 ⁵	2,1x10 ⁶	4,5x10 ⁶	4,5x10 ⁷	5,1x10 ⁶	3,1x10 ⁵

Xác định pH lên men thích hợp cho 2 chủng vi nấm nghiên cứu

Lên men xộp 2 chủng vi nấm nghiên cứu với các điều kiện sau: nhiệt độ lên men 30 °C (± 1-1,5 °C); pH ban đầu được chỉnh tới các khoảng: 5,0-5,5; 5,5-6,0; 6,0-6,5; 6,5- 7,0;

7,0-7,5 trong buồng lên men 4m³ [4]. Vì 2 chủng vi nấm nghiên cứu đều thuộc cùng 1 loài nên tiến hành khảo sát pH của chủng *Penicillium oxalicum* N₁CS₁trk. Sau các khoảng thời gian lên men nhất định, tiến hành xác định mật độ vi nấm trên đĩa thạch chứa môi trường czapeck –dox đặc.

Bảng 3.3.15 Ảnh hưởng của pH lên sinh trưởng chủng vi nấm nghiên cứu (CFU/g)

Thời gian (giờ)		96	120	144	168	240	288
<i>Penicillium oxalicum</i> N ₁ CS ₁ trk.	pH = 5,0-5,5	1,7x10 ⁴	4,5x10 ⁴	3,2x10 ⁵	3,0x10 ⁶	2,7x10 ⁵	1,3x10 ⁵
	pH = 5,5-6,0	1,3x10 ⁶	1,7x10 ⁷	2,5x10 ⁸	3,3x10 ⁸	2,1x10 ⁷	1,0x10 ⁷
	pH = 6,0-6,5	4,7x10 ⁸	6,3x10⁷	3,7x10 ⁹	3,8x10 ⁹	3,1x10 ⁷	4,3x10 ⁷
	pH = 6,5- 7,0	2,5x10 ⁸	1,0x10 ⁷	3,7x10 ⁸	3,0x10 ⁸	3,0x10 ⁷	3,3x10 ⁷
	pH = 7,0-7,5	3,3x10 ⁴	2,1x10 ⁵	1,5x10 ⁵	5,7x10 ⁶	6,2x10 ⁵	3,3x10 ⁵

Kết quả trên bảng cho thấy pH khoảng 6,0-6,5 thích hợp nhất cho lên men xộp 2 chủng vi nấm nghiên cứu.

(3) Xác định nhiệt độ lên men bề mặt thích hợp cho các chủng VK nghiên cứu

Các chủng VK nghiên cứu được nhân giống cấp 1, nhân giống cấp 2 và lên men bề mặt, sau đó bổ sung tỉ lệ giống 5-10% vào khay ủ trong buồng nhân giống 4m³. Trong điều kiện lên men với chế độ thổi khí 600l/ph. Nhiệt độ lên men thay đổi như sau: 30 °C, 35 °C, 37 °C, 40 °C (sai số 0,5 -1 °C). Vì *B. subtilis* TIVP18 và *B. subtilis* CFIII cùng loài nên chọn 1 chủng là *B. subtilis* TIVP18 để khảo sát nhiệt độ, và đối với 2 chủng *B. megaterium* BXF9 và *B. megaterium* CF-vp17 cũng cùng 1 loài nên chọn chủng *B. megaterium* BXF9 để khảo sát. Tiến hành xác định mật độ VK sau các khoảng thời gian nuôi cấy nhất định. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.3.16.

Bảng 3.3.16. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên mật độ của VK (CFU/g)

Thời gian (giờ)		24	35	40	48	52	72
<i>Bacillus subtilis</i> TIVP18	30 °C	1,3x10 ⁵	4,5x10 ⁶	1,3x10 ⁷	3,5x10 ⁸	2,7x10 ⁷	3,9x10 ⁶
	35 °C	2,7x10 ⁶	2,4x10 ⁷	1,5x10 ⁶	3,0x10⁸	2,1x10⁸	1,3x10⁷
	37 °C	1,7x10 ⁶	4,3x10 ⁷	6,4x10 ⁵	3,5x10⁸	3,2x10⁸	2,5x10⁷
	40 °C	2,0x10 ⁴	2,2x10 ⁵	3,5x10 ⁵	3,5x10 ⁶	1,5x10 ⁶	2,1x10 ⁴
<i>Bacillus flexus</i> TI6	30 °C	1,5x10 ⁴	1,2x10 ⁵	2,3x10 ⁶	2,2x10 ⁸	2,5x10 ⁷	1,5x10 ⁶
	35 °C	3,7x10 ⁶	2,8x10 ⁷	3,2x10 ⁸	4,9x10⁷	1,0x10⁹	1,1x10⁸
	37 °C	3,3x10 ⁶	2,4x10 ⁷	3,5x10 ⁷	5,1x10⁷	3,2x10⁸	2,5x10⁷
	40 °C	2,3x10 ⁴	5,4x10 ⁴	1,5x10 ⁵	1,1x10 ⁶	3,0x10 ⁵	1,5x10 ⁵

<i>Bacillus megaterium</i> BX-F9	30 °C	5,1x10 ⁴	6,3x10 ⁵	2,2x10 ⁶	3,4x10 ⁷	4,1x10 ⁶	4,7x10 ⁶
	35 °C	5,7x10 ⁶	1,5x10 ⁷	3,1x10 ⁷	1,3x10⁷	2,7x10⁸	1,3x10⁸
	37 °C	4,3x10 ⁶	4,9x10 ⁷	3,1x10 ⁷	6,5.10⁶	3,9x10⁸	2,0x10⁷
	40 °C	2,0x10 ⁴	3,4x10 ⁴	1,5x10 ⁵	1,7x10 ⁶	3,2x10 ⁵	3,0x10 ⁴

Nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của chủng VK chỉ nằm trong khoảng 35-37 °C. Kết quả nhận được cho thấy, nhiệt độ lên men xốp 37 °C là thích hợp nhất cho *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* và *Bacillus flexus* phát triển, điều này phù hợp lên men chìm.

Chủng XK nghiên cứu

Chủng XK *S. diastatochromogenes* CS_{5.11}cdk được nhân giống cấp 1, nhân giống cấp 2 và lên men chìm sau đó bổ sung tỉ lệ giống 5-10% vào khay ủ trong buồng nhân giống 4m³ với các thành phần cơ chất đã nêu trên phần phương pháp. Chế độ thổi khí 600l/ph; pH 6,5-7,0, nhiệt độ lên men được thử với các nhiệt độ sau: 28, 30, 35, 40 °C. Kết quả xác định mật độ CFU/g được trình bày trong bảng 3.3.17.

Bảng 3.3.17. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên mật độ XK (CFU/g)

Thời gian (giờ)	<i>S. diastatochromogenes</i> CS _{5.11} cdk			
	28 °C	30 °C	35 °C	40 °C
35	1,7x10 ⁵	1,9x10 ⁶	3,3x10 ⁵	2,5x10 ⁴
37	2,3x10 ⁶	2,3x10 ⁷	1,7x10 ⁶	1,3x10 ⁵
40	1,5x10 ⁷	5,3x10 ⁷	3,3x10 ⁷	2,7x10 ⁵
48	1,3x10 ⁷	2,3x10 ⁸	2,0x10 ⁷	3,5x10 ⁴
52	1,3x10 ⁷	3,7x10⁸	2,7x10 ⁶	2,7x10 ⁴
72	3,1x10 ⁷	5,0x10⁸	1,3x10 ⁶	3,0x10 ⁴

Đối với chủng *S. diastatochromogenes* CS_{5.11}cdk nhiệt độ và thời gian lên men cũng không có sự khác biệt so với khi lên men chìm. Nhiệt độ thích hợp nhất cho chủng này phát triển là 30 °C.

Xác định nhiệt độ thích hợp với chủng vi nấm nghiên cứu

Bảng 3.3.18. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên mật độ vi nấm nghiên cứu (CFU/g)

Thời gian (giờ)	<i>Penicilium oxalicum</i> N ₁ CS ₁ trk			
	24 °C	26 °C	30 °C	35 °C
120	2,7x10 ⁸	6,1x10 ⁸	4,7x10 ⁹	2,3x10 ⁷
144	4,3x10 ⁸	3,3x10⁶	0,8x10¹⁰	4,1x10 ⁸
168	1,7x10 ⁸	4,3x10⁷	1,0x10⁷	3,0x10 ⁸
240	1,5x10 ⁷	2,5x10 ⁸	2,0x10 ⁹	2,3x10 ⁷
288	3,3x10 ⁵	1,5x10 ⁶	6,5x10 ⁷	3,9x10 ⁵

Lên men xốp 2 chủng vi nấm nghiên cứu với pH: 6,5-7,0 trong buồng lên men 4m³. Vì 2 chủng vi nấm nghiên cứu đều thuộc cùng 1 loài nên tiến hành khảo sát nhiệt độ của

chủng *Penicillium oxalicum* N₁CS₁trk. Sau các khoảng thời gian lên men nhất định, tiến hành xác định mật độ vi nấm trên đĩa thạch chứa môi trường czapecck –dox đặc.

Kết quả trên bảng 3.3.18 cho thấy : nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của vi nấm *Penicillium oxalicum* khi lên men xộp nằm trong khoảng 26-30 °C, kết quả này cũng giống với nhiệt độ thích hợp khi lên men chìm vi nấm này

(4) Xác định độ ẩm thích hợp cho quá trình lên men xộp các chủng VK tuyển chọn

Các chủng VK *Bacillus subtilis* CFIII, *Bacillus subtilis* TIVP18, *Bacillus flexus* Ti6, *Bacillus megaterium* BX-F9, *Bacillus megaterium*CFB3, *Bacillus megaterium* CF-VP17 được nhân giống cấp 1 và cấp 2, lên men chìm, sau đó bổ sung tỉ lệ giống 5-10% vào khay ủ trong buồng lên men bề mặt tuần hoàn khí 4m³.Độ ẩm của quá trình lên men xộp được khảo sát trong khoảng giá trị từ 30% đến 60%. Độ ẩm được khống chế bởi pep phun nước và đảo đều. Kiểm tra mật độ VSV sau 2 ngày ủ tại các giá trị khảo sát độ ẩm nhằm tìm độ ẩm lên men xộp thích hợp nhất cho các chủng VK.

Kết quả bảng 3.3.19 cho thấy, các chủng VK khảo sát đều đạt mật độ cao nhất tại độ ẩm 40%. Vì vậy, độ ẩm thích hợp cho quá trình lên men xộp các chủng VK *Bacillus subtilis* CFIII, *Bacillus subtilis* TIVP18, *Bacillus flexus* Ti6, *Bacillus megaterium* BX-F9, *Bacillus megaterium* CFB3, *Bacillus megaterium* CF-VP17 trong lên hệ thống men bề mặt tuần hoàn khí 4 m³ là 40%. Mật độ VK sau 48 giờ lên men đạt khoảng 3,5 - 6,3x10⁷CFU/g.

Bảng 3.3.19. Ảnh hưởng của độ ẩm lên men xộp lên mật độ VK (CFU/g)

Chủng VK	Độ ẩm lên men xộp (%)			
	30	40	50	60
<i>Bacillus subtilis</i> CFIII	4,3x10 ⁷	5,5x10⁷	3,2x10 ⁷	2,8x10 ⁶
<i>Bacillus subtilis</i> TIVP18	3,2x10 ⁷	4,9x10⁷	2,7x10 ⁷	5,1x10 ⁶
<i>Bacillus flexus</i> Ti6	3,8x10 ⁷	6,1x10⁷	2,2x10 ⁷	2,5x10 ⁶
<i>Bacillus megaterium</i> BX-F9	4,7x10 ⁷	5,4x10⁹	2,4x10 ⁷	2,9x10 ⁶
<i>Bacillus megaterium</i> CFB3	1,8x10 ⁷	3,5x10⁷	1,9x10 ⁷	4,4x10 ⁶
<i>Bacillus megaterium</i> CF-VP17	4,8x10 ⁷	6,3x10⁷	2,1x10 ⁷	2,6x10 ⁶

Xác định độ ẩm các chủng XK và vi nấm tuyển chọn

Chủng XK *S. diastatochromogenes* CS_{5.11}cdk và hai chủng nấm *P. oxalicum* N1CS1trk và *P. oxalicum* TiN1sau khi được nhân giống cấp 1, cấp 2 và lên men chìm sẽ

được bổ sung tỉ lệ giống 5-10% vào các khay ủ trong buồng lên men bề mặt tuần hoàn khí 4m³. Độ ẩm của quá trình lên men xộp được khảo sát trong khoảng giá trị từ 30% đến 70%. Độ ẩm được khống chế bởi pep phun nước và đảo đều. Kiểm tra mật độ VSV sau 2 ngày ủ tại các giá trị khảo sát độ ẩm nhằm tìm độ ẩm lên men xộp thích hợp nhất cho các chủng vi nấm và XK.

Bảng 3.3.20. Ảnh hưởng của độ ẩm lên men xộp lên mật độ VSV được tuyển chọn (CFU/g)

Chủng VK	Độ ẩm lên men xộp (%)				
	30	40	50	60	70
<i>S. diastatochromogenes</i> CS _{5.11} cdk	3,5x10 ⁷	5,1x10 ⁵	1,2x10 ⁷	5,7x10⁷	3,4x10 ⁸
<i>P. oxalicum</i> N1CS1trk	4,7x10 ⁷	4,7x10 ⁵	6,7x10⁷	5,0x10 ⁶	3,1x10 ⁷
<i>P. oxalicum</i> TiN1	5,8x10 ⁷	6,4x10 ⁶	6,1x10⁷	4,9x10 ⁶	4,5x10 ⁷

Kết quả bảng 3.3.20 cho thấy, chủng XK *S. diastatochromogenes* CS_{5.11}cdk đạt mật độ cao nhất tại độ ẩm 60%, trong khi đó hai chủng vi nấm *P. oxalicum* N1CS1trk và *P. oxalicum* TiN1 đạt mật độ cao nhất tại độ ẩm 50%. Vì vậy, độ ẩm thích hợp cho quá trình lên men xộp chủng XK *S. diastatochromogenes* CS_{5.11}cdk và hai chủng vi nấm *P. oxalicum* N1CS1trk và *P. oxalicum* TiN1 trong lên hệ thống men bề mặt tuần hoàn khí 4 m³ là 60% và 50% tương ứng. Mật độ XK và nấm sau 48 giờ lên men đạt khoảng 5,7 - 6,7x10⁷ CFU/g. Xác định thời gian lên men bề mặt của các chủng nghiên cứu

Các chủng VK *Bacillus subtilis*, *Bacillus flexus*, *Bacillus megaterium* được nhân giống cấp 1, nhân giống cấp 2 và lên men chìm, sau đó bổ sung tỉ lệ giống 5-10% vào khay ủ trong buồng nhân giống 5m³. Trong điều kiện lên men như: môi trường lên men xộp cho cả 3 VK nghiên cứu là CTvk3, chế độ thổi khí 600l/ph. Nhiệt độ lên men 37 °C (sai số 0,5 -1 °C); đánh giá mật độ VSV ở các thời gian sau lên men: 24, 35, 40, 48, 52, 60, 72 giờ. Đánh giá kết quả nhận được sau các giờ nuôi cấy khác nhau được trình bày ở bảng 3.3.21.

Kết quả cho thấy, sau mỗi khoảng thời gian lên men khác nhau mật độ VSV thu được là khác nhau, sau thời gian 16 - 24 giờ lên men cho mật độ VK vẫn còn thấp mới chỉ đạt 10⁵ CFU/ml. Nhưng sau thời gian lên men 48-52 giờ sinh trưởng của cả 3 chủng VK nghiên cứu, đặc biệt ở 48 giờ lên men mật độ VK đạt cao nhất so với các thời gian lên men khác, đạt 2,4 - 5,3x10⁷ CFU/ml. Nhưng sau khoảng 48 giờ lên men mật độ tế bào có xu hướng giảm rõ rệt, thời gian lên men càng kéo dài thêm thì mật độ VK sẽ càng giảm. Như vậy có thể kết luận thời gian lên men bề mặt thích hợp nhất cho 3 chủng VK nghiên cứu là 48 giờ.

Bảng 3.3.21. Mật độ VK nghiên cứu sau các khoảng thời gian lên men (CFU/g)

Thời gian (giờ)	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus flexus</i>	<i>Bacillus megaterium</i>
16	1,9x10 ⁵	1,0x10 ⁵	1,5x10 ⁵
24	2,1x10 ⁵	1,1x10 ⁵	1,9x10 ⁵
35	3,5x10 ⁶	6,4x10 ⁶	4,2x10 ⁶
40	4,1x10 ⁵	1,4x10 ⁶	2,7x10 ⁶
48	5,3x10⁷	2,4x10⁷	2,5x10⁷
52	3,9x10 ⁶	1,3x10 ⁶	1,9x10 ⁶
60	6,1x10 ⁶	3,5x10 ⁶	2,3x10 ⁶
72	3,9x10 ⁶	2,0x10 ⁶	3,0x10 ⁵

Tương tự chủng VK, chủng XK *S. diastatochromogenes* được lấy ra từ tủ -80oC đã đông 30 phút ở 4oC. Hoạt hóa chủng trên môi trường thạch agar tương ứng sau 24h nuôi cấy. Chủng XK được nhân giống cấp 1, cấp 2 và lên men chìm, sau đó được lên men xộp bằng môi trường CTvk3, với chế độ thổi khí 600l/ph, nhiệt độ nuôi cấy 30 °C (sai số 0,5 -1 °C); pH môi trường 6,8-7,0; độ ẩm 40-50%. Sau đó được ủ trong tủ lên men có dung tích 5m x1m x1,5m, với khay inox có độ dày của các lớp môi trường từ 4- 8 cm. Tiến hành đánh giá mật độ chủng lên men sau: 35, 37, 40, 48, 52, 60, 72 giờ nuôi cấy. Mật độ XK sau khi lên men xộp tại các thời gian khác nhau được trình bày ở bảng 3.3.22.

Bảng 3.3.22. Mật độ XK *S. diastatochromogenes* sau các khoảng thời gian lên men (CFU/g)

Giờ	35h	37h	40h	48h	52h	60h	72h	96h
<i>S. diastatochromogenes</i>	3,2x 10 ⁴	6,1x 10 ⁵	3,6x 10 ⁶	4,3x 10 ⁷	4,6x 10⁷	2,8x 10 ⁷	3,5x 10 ⁷	3,1x 10 ⁷

Kết quả đánh giá mật độ chủng giống sau các khoảng thời gian lên men, thời gian lên men cho XK *S. diastatochromogenes* đạt mật độ cao nhất là ở 52giờ là **4,6 x 10⁷**. Vì vậy chọn thời gian 52 giờ để lên men bề mặt XK *S. diastatochromogenes* sản xuất chế phẩm vi sinh sau này.

Hai chủng vi nấm *Penicillium oxalicum* được hoạt hóa, chọn lại dòng và nhân giống cấp 1, cấp 2, lên men chìm, sau đó lên men xộp bằng môi trường CTnp3, chế độ thổi khí 600l/ph, nhiệt độ lên men 30 °C, pH 6,5-7,0, độ ẩm 40-50%. Sau đó được ủ trong tủ lên men có dung tích 5m x1m x1,5m, với khay inox có độ dày của các lớp môi trường từ 4- 8 cm. Đánh giá mật độ chủng sau thời gian lên men khác nhau: 96h, 120h, 144h, 168h, 240h, 288h, 300h. Mật độ vi nấm sau các giờ lên men khác nhau được trình bày ở bảng 3.3.23.

Bảng 3.3.23. Mật độ vi nấm nghiên cứu sau các khoảng thời gian lên men (CFU/g)

Giờ	48	96	120	144	168	240	288	300
<i>Penicillium oxalicum</i> N ₁ CS ₁ trk	1,6x10 ⁵	2,2x10 ⁵	5,1x10⁹	1,5x10⁷	1,8x10⁷	3,1x10 ⁶	5,7x10 ⁵	4,5x10 ⁶
<i>Penicillium oxalicum</i> TiN1	1,8x10 ⁵	1,8x10 ⁵	5,2x10⁹	2,9x10⁷	1,5x10⁷	1,5x10⁶	4,7x10 ⁶	2,5x10 ⁶

Từ kết quả đánh giá mật độ chủng sau các khoảng thời gian nuôi cấy trên bảng 3.3 cho thấy thời gian lên men bề mặt cho hai chủng *Penicillium oxalicum* là 144 đến 168 giờ để đạt tối đa 1,5-2,9x10⁷ CFU/g.

(3) Xác định thời gian bảo quản chế phẩm gốc

Bảng 3.3.24. Mật độ VK và hoạt tính của *Bacillus subtilis*

Thời gian	Mật độ (CFU/g)	Vòng phân giải phốt phát (mm)	Vòng kháng <i>F.oxysporum</i> (mm)	MIC _{Fe} mM	MIC _{Al} mM
1 tháng	6,1x10 ⁹	12,5	53,7	12	11
2 tháng	5,9x10 ⁹	12,1	53,3	12	11
3 tháng	5,7x10 ⁹	11,7	52,5	12	11
4 tháng	4,8x10 ⁹	11,2	51,8	11	10
5 tháng	3,9x10 ⁹	10,9	51,3	11	10
6 tháng	1,5x10 ⁹	10,7	51,1	11	10

Mật độ VK *Bacillus subtilis* và các hoạt tính của *Bacillus subtilis* từ chế phẩm gốc được trình bày ở bảng 3.3.24. Kết quả cho thấy mật độ *Bacillus subtilis* và hoạt tính của chúng giảm dần theo thời gian bảo quản. Tuy nhiên sau 6 tháng bảo quản, hoạt lực của *Bacillus subtilis* trong chế phẩm gốc vẫn còn tốt và mật độ vẫn đảm bảo 10⁹ CFU/g nên thời gian bảo quản khuyến cáo là 6 tháng. Tuy nhiên qua đánh giá về cả hoạt tính chế phẩm thì khuyến cáo nên sử dụng chế phẩm gốc ngay sau lên men trong khoảng từ 1 đến 4 tháng bảo quản, để chế phẩm thứ cấp đạt được hiệu quả tốt khi đưa ra đồng ruộng.

Mật độ VK *Bacillus megaterium* và các hoạt tính của *Bacillus megaterium* từ chế phẩm gốc sau các thời gian bảo quản khác nhau được trình bày ở bảng 3.3.25

Bảng 3.3.25. Mật độ VK và hoạt tính của *Bacillus megaterium*

Thời gian	Mật độ (CFU/g)	Vòng phân giải phot phát (mm)	Sinh tổng hợp IAA ($\mu\text{g/mL}$)	Cố định đạm ($\mu\text{g/mL}$)	MIC _{Fe} mM	MIC _{Al} mM
1 tháng	5,4x10 ⁹	11,7	98,5	15,7	15	14
2 tháng	4,3x10 ⁹	11,5	98,1	15,3	15	14
3 tháng	3,8x10 ⁹	11,3	97,4	14,8	15	14
4 tháng	2,9x10 ⁹	10,9	97,1	14,4	14	13
5 tháng	2,5x10 ⁹	10,6	96,9	13,7	13	13
6 tháng	1,0x10 ⁹	10,1	96,5	13,3	13	13

Kết quả đánh giá mật độ *Bacillus megaterium* và hoạt tính của chế phẩm sau 6 tháng bảo quản cho thấy chúng có giảm dần theo thời gian bảo quản về cả mật độ và hoạt tính sinh học. Tuy nhiên sau 6 tháng bảo quản, hoạt tính của *Bacillus megaterium* trong chế phẩm gốc vẫn còn tốt và mật độ vẫn đảm bảo 10⁹ CFU/g nên thời gian bảo quản khuyến cáo là 6 tháng.

Bảng 3.3.26. Mật độ VK *Bacillus flexus* và hoạt tính của *Bacillus flexus*

Thời gian	Mật độ (CFU/g)	Vòng kháng <i>F.oxysporum</i> (mm)	Vòng kháng <i>R.solani</i> (mm)	MIC _{Fe} mM	MIC _{Al} mM
1 tháng	5,8x10 ⁹	47,6	61,2	13	12
2 tháng	4,7x10 ⁹	47,2	60,3	13	12
3 tháng	3,8x10 ⁹	46,7	59,5	13	12
4 tháng	2,5x10 ⁹	46,3	58,8	12	11
5 tháng	1,8x10 ⁹	45,9	58,3	12	11
6 tháng	1,1x10 ⁹	45,5	58,1	11	11

Mật độ VK *Bacillus flexus* và các hoạt tính của *Bacillus flexus* từ chế phẩm gốc sau các thời gian bảo quản khác nhau được trình bày ở bảng 3.3.26. Kết quả đánh giá sau 6 tháng bảo quản cho thấy mật độ *Bacillus flexus* và hoạt tính của chúng giảm dần theo thời gian bảo quản. Tuy nhiên sau 6 tháng bảo quản, hoạt tính của *Bacillus flexus* trong chế phẩm gốc vẫn còn tốt và mật độ vẫn đảm bảo 10⁹ CFU/g nên thời gian bảo quản khuyến cáo là 6 tháng.

Hoạt tính đối kháng nấm *F. oxysporum* của XK *S. diastatochromogenes*

Dịch nuôi cấy XK *S.diastatochromogenes* từ chế phẩm gốc sau các khoảng thời gian bảo quản khác nhau được lấy ra đánh giá mật độ VSV tổng số và kiểm tra hoạt tính đối kháng với nấm bệnh *F. oxysporum*

Bảng 3.3.27. Hoạt tính đối kháng của *S.diastatochromogenes* với nấm bệnh *F. oxysporum*

Thời gian	Mật độ (CFU/g)	Hoạt tính đối kháng <i>F.oxysporum</i>
1 tháng	5,7x10 ⁹	18,4
2 tháng	5,3x10 ⁹	18,3
3 tháng	4,9x10 ⁹	17,7
4 tháng	4,9x10 ⁹	17,5
5 tháng	2,3x10 ⁹	16,7
6 tháng	1,2x10 ⁹	16,4

Kết quả kiểm tra đánh giá cho thấy, mật độ VSV tổng số và hoạt tính đối kháng nấm bệnh *F. oxysporum* của XK *S.diastatochromogenes* có xu hướng giảm dần theo thời gian bảo quản nhưng sau 6 tháng mật độ chủng vẫn đạt 10⁹ CFU/ml , hoạt tính của chúng vẫn còn tốt và vẫn đảm bảo sử dụng để tạo chế phẩm hử cấp được sau 6 tháng bảo quản. Vì vậy, chúng vẫn có thể được bảo quản trong vòng 6 tháng mà vẫn đáp ứng được yêu cầu chế phẩm đưa ra. Vì vậy 6 tháng là khuyến cáo được đưa ra vẫn là thời gian đáng tin cậy cho chế phẩm POLYFA TN3

Hoạt tính đối kháng nấm F. oxysporum của vi nấm Penicillium oxalicum

Chế phẩm gốc POLYFA TN3 sau 6 tháng bảo quản được lấy ra để đánh giá hoạt tính đối kháng của vi nấm *Penicillium oxalicum* với nấm bệnh *F. oxysporum*

Kết quả đánh giá hoạt tính đối kháng nấm bệnh của XK *S.diastatochromogenes* và vi nấm *Penicillium oxalicum* đối với *F. oxysporum* giảm dần sau 6 tháng bảo quản, tuy nhiên hoạt tính này của chúng vẫn còn đáp ứng tốt sau 6 tháng bảo quản và đạt mật độ 10⁹ CFU/g. Vì vậy, chúng vẫn có thể được bảo quản trong vòng 6 tháng.

Bảng 3.3.28. Hoạt tính đối kháng của vi nấm *P. oxalicum* đối với nấm *F. oxysporum*

Thời gian	Mật độ (CFU/g)	Tỷ lệ ức chế nấm <i>F.oxysporum</i> (%)	Mức độ đối kháng nấm <i>F.oxysporum</i>
1 tháng	5,6x10 ⁹	76,8	+++
2 tháng	5,4x10 ⁹	76,4	+++
3 tháng	4,7x10 ⁹	75,2	+++
4 tháng	3,5x10 ⁹	75,0	++

5 tháng	$2,7 \times 10^9$	74,7	++
6 tháng	$1,1 \times 10^9$	74,1	++

Như vậy, thông số hoàn thiện cho quy trình công nghệ lên men bề mặt tạo chế phẩm vi sinh trong hệ thống lên men tuần hoàn khí:

- Đối với các chủng VK thuộc chi *Bacillus*: môi trường MTBm4.3.0; giống cấp ban đầu là 7%; nhiệt độ lên men $35^\circ\text{C} - 37^\circ\text{C}$; pH 6,8 – 7,0; khuấy 150 vòng/phút; nạp khí 60 lít/phút; thời gian lên men 35 - 40 giờ.
- Đối với chủng XK *Streptomyces diastatochromogenes* CM_{5.11}cdk: môi trường MTXs1; giống cấp ban đầu là 7%; nhiệt độ lên men 30°C ; pH 6,5 – 7,0; khuấy 150 vòng/phút; nạp khí 60 lít/phút; thời gian lên men 48 - 55 giờ.
- Đối với chủng vi nấm *Penicillium oxalicum* N₁CS₁trk ,TiN1: môi trường MTNp1; giống cấp ban đầu là 10%; nhiệt độ lên men 30°C ; pH 6,0 – 6,5; khuấy 200 vòng/phút; nạp khí 70 lít/phút; thời gian lên men 72 – 96 giờ.

3.4.2.2. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình thu hồi và tạo sản phẩm

Bước 3. Hoàn thiện quy trình sản xuất chế phẩm POLYFA TN3 (Quy mô công nghiệp với thể tích ủ từ 100 m^3)

(1) Kết quả xử lý nguyên liệu tạo bán thành phẩm hữu cơ

Than bùn, vỏ cà phê và bùn mía được thu mua tại các hộ dân trên địa bàn tỉnh các tỉnh Miền Trung và Tây Nguyên. Các nguyên liệu này được phân loại và loại bỏ những phần thối, hỏng và tạp chất. Do thu gom trong thời điểm mùa mưa nên hàm ẩm của các nguyên liệu này khá cao. Kết quả kiểm tra độ ẩm ban đầu cho thấy than bùn là 45-50%, bùn mía 65-73% và vỏ cà phê 45-52%. Để quá trình lên men đạt hiệu quả cao, thông thường độ ẩm ban đầu của các nguyên liệu khoảng 30-40%. Dùng máy xúc để làm tơi khối sau đó sấy đến khi độ ẩm đạt yêu cầu. Cuối cùng sử dụng máy đập mía (công suất 5W/h) để nghiền nhỏ các nguyên liệu, kích thước các hạt sau khi nghiền đạt khoảng 2-4mm.

(2) Kết quả nghiên cứu thành phần bán thành phẩm hữu cơ

Để tạo ra bán thành phẩm đạt yêu cầu về chất lượng, việc trước tiên khi tiến hành lên men là cần xác định tỷ lệ phối trộn các nguyên liệu. Các nguyên liệu than bùn, bã mía và vỏ cà phê được phối trộn theo các tỷ lệ như đã trình bày trên phần phương pháp. Sau khi

lên men, mật độ VSV tổng số và các thông số của bán thành phẩm hữu cơ được kiểm tra (bảng 3.3.29).

Bảng 3.3.29. Mật độ và các thông số bán thành phẩm hữu cơ

STT	Công thức	Mật độ VSV (CFU/g)	pH sau khi ủ	Nhiệt độ sau khi ủ (°C)	Độ ẩm sau khi ủ (%)	Hàm lượng mùn (%)
1	CT1	$1,2 \times 10^6$	6,7-7,2	25 - 30	30-40	27,9
2	CT2	$2,4 \times 10^7$	6,9-7,5	25 - 30	30-40	27,8
3	CT3	$4,6 \times 10^8$	6,9-7,4	25 - 30	30-40	29,3

Bảng kết quả xác định các thông số của bán thành phẩm hữu cơ với các tỷ lệ khác nhau cho thấy không có sự ảnh hưởng đáng kể của các công thức cơ chất lên các yếu tố như pH, nhiệt độ và độ ẩm của bán thành phẩm hữu cơ. Tuy nhiên mật độ VSV và hàm lượng mùn của bán thành phẩm hữu cơ có sự khác nhau giữa các công thức. Công thức 1 mật độ VSV đạt được thấp nhất còn với công thức 3 cho mật độ VSV cao nhất, tương tự tỷ lệ hàm lượng mùn cũng thay đổi theo quy luật như mật độ VSV. Như vậy thành phần cơ chất lên men có ảnh hưởng đến sự phát triển của VSV, từ đó ảnh hưởng đến chất lượng của bán thành phẩm hữu cơ. Trên cơ sở kết quả nghiên cứu trên, chọn CT3 là thích hợp cho các nghiên cứu tiếp theo.

Tiếp theo, tiếp tục nghiên cứu tỷ lệ bổ sung của chế phẩm phân hủy cellulose MICROCOM vào khối ủ CT3. Các tỷ lệ được nghiên cứu là 1/100; 1/1000 và 1/10000. Mật độ VSV và các thông số của bán thành phẩm hữu cơ sau lên men 20 ngày được trình bày ở bảng 3.3.30 cho thấy, tỷ lệ chế phẩm MICROCOM bổ sung vào có ảnh hưởng đến mật độ VSV và lượng mùn của bán thành phẩm hữu cơ. Với tỷ lệ 1/10000, mật độ VSV và hàm lượng mùn thấp nhất. Trong khi đó, khi tăng tỷ lệ chế phẩm MICROCOM lên 1/100 và 1/1000 thì mật độ VSV và hàm lượng mùn tăng lên đáng kể. Nhìn chung, khi tỷ lệ chế phẩm bổ sung được tăng cường thì bán thành phẩm hữu cơ đạt hiệu quả tốt hơn, tuy nhiên với tỷ lệ 1/1000 thì mật độ VSV và hàm lượng mùn vẫn đạt khá tốt và không thay đổi đáng kể so với tỷ lệ 1/100. Mặt khác, trong quá trình sản xuất, yêu cầu tiết kiệm và giảm chi phí sản xuất là một trong những yếu tố rất quan trọng, vì vậy lựa chọn tỷ lệ bổ sung 1/1000 là phù hợp.

Bảng 3.3.30. Mật độ và các thông số của bán thành phẩm hữu cơ khi thay đổi các tỷ lệ chế phẩm phân hủy cellulose MICROCOM

STT	Tỷ lệ chế phẩm MICROCOM	Mật độ VSV (CFU/g)	pH sau khi ủ	Nhiệt độ sau khi ủ (°C)	Độ ẩm sau khi ủ (%)	Hàm lượng mùn (%)
1	1/100	$5,3 \times 10^7$	6,9-7,3	25 - 30	30 - 40	30,2
2	1/1000	$1,5 \times 10^6$	6,8-7,4	25 - 30	30 - 40	29,8
3	1/10000	$4,5 \times 10^4$	6,9-7,4	25 - 30	30 - 40	26,1

(3) Kết quả nghiên cứu tỷ lệ phần trăm chế phẩm VSV gốc lên men bán thành phẩm hữu cơ

Để phân bón POLYFA TN3 đạt yêu cầu về mật độ VSV, đã khảo sát tỷ lệ chế phẩm gốc POLYFA TN3 phối trộn vào bán thành phẩm hữu cơ và kiểm tra mật độ VSV sau khi phối trộn. Mật độ VSV sau khi phối trộn được trình bày ở bảng 3.3.31.

Kết quả cho thấy ở tỷ lệ phối trộn chế phẩm VSV gốc POLYFA TN3 1/100 và 1/1000 mật độ VSV hữu ích đạt $10^6 - 10^7$ CFU/g, đạt tiêu chuẩn về mật độ VSV đối với phân bón hữu cơ vi sinh (10^6 CFU/g). Tuy nhiên, để tối ưu hoá chi phí cho quá trình sản xuất lựa chọn tỷ lệ phối trộn chế phẩm VSV gốc POLYFA TN3 bổ sung vào khối ủ bán thành phẩm hữu cơ phù hợp là 1/1000.

Bảng 3.3.31. Mật độ VSV sau lên men khi thay đổi tỷ lệ chế phẩm VSV gốc vào bán thành phẩm hữu cơ (CFU/g)

Tỷ lệ chế phẩm gốc phối trộn	VK <i>Bacillus Megaterium</i> (BX-F9; CFB3; CFVP17); <i>Bacillus subtilis</i> (TIVP18; CF III); <i>Bacillus flexus</i> (TiB6)	XK <i>Streptomyces diastatochromogenes</i> (CM5.11cdk)	Vi nấm <i>Penicillium oxalicum</i> (N1 CS1trk, TiN1)
1/100	$1,4 - 5,1 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$
1/1000	$2,3 - 5,9 \times 10^6$	$2,7 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$
1/10000	$1,8 - 5,4 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$2,1 \times 10^4$

(4). Kết quả xác định quy trình khí nạp vào hầm ủ $100m^3$ lên men bán thành phẩm hữu cơ

Bảng 3.3.32. Các thông số bán thành phẩm hữu cơ sau khi ủ

STT	Lượng khí nạp vào hầm ủ (m^3 khí/tấn nguyên liệu/giờ)	Thời gian ủ (ngày)	pH	Nhiệt độ (t°C)	Độ ẩm (%)	Hàm lượng mùn (%)
1	5	25	6,5 – 7,5	25 - 30	30-40	28,6
2	7,5	25	6,7 – 7,5	25 - 30	30-40	29,5
3	10	25	6,6 – 7,4	25 - 30	30-40	27,8

Khi lên men trong hầm ủ lớn thì lượng khí nạp vào hầm ủ là bao nhiêu cũng rất quan

trọng. Khí được nạp vào sẽ giúp VSV sử dụng cho sự phân hủy chất hữu cơ, cũng như làm bay hơi nước và giải phóng nhiệt. Nếu khí không được cung cấp đầy đủ thì trong khối ủ có thể có những vùng kỵ khí, gây mùi hôi, làm hỏng khối ủ hoặc giảm chất lượng chế phẩm. Vì vậy, để xác định lượng khí nạp vào hầm ủ 100m³ phù hợp nhất là bao nhiêu, lượng khí nạp được đưa vào khối ủ khác nhau 5; 7,5; 10 m³ khí/ tấn nguyên liệu/ giờ, bán thành phẩm hữu cơ sau lên men được kiểm tra độ ẩm, pH, nhiệt độ và độ mùn. Kết quả kiểm tra chất lượng bán thành phẩm hữu cơ được trình bày ở bảng 3.3.32.

Kết quả kiểm tra các thông số kỹ thuật của bán thành phẩm hữu cơ ở cả ba chế độ nạp khí vào hầm ủ khác nhau cho thấy không có sự chênh lệch đáng kể về các yếu tố như nhiệt độ, độ ẩm, pH cũng như hàm lượng mùn. Trong các yếu tố trên, hàm lượng mùn của bán thành phẩm là yếu tố quan trọng nhất để đánh giá chất lượng của bán thành phẩm. Nhìn chung, hàm lượng mùn ở cả ba chế độ nạp khí dao động trong khoảng 27,8 - 29,5%, đều đáp ứng tốt yêu cầu của phân bón. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu về chế độ thổi khí đối với quá trình ủ, lượng khí nạp vào hầm ủ thích hợp đối với quá trình ủ phân sinh học là 5-10 m³ khí/tấn nguyên liệu/giờ. Mặc dù chế độ nạp khí 7,5 m³ khí/tấn nguyên liệu/giờ cho hàm lượng mùn cao nhất, tuy nhiên giữa các chế độ nạp khí khảo sát không có sự chênh lệch lớn, mặt khác để đáp ứng yêu cầu tiết kiệm chi phí sản xuất, đã lựa chọn chế độ nạp khí 5 m³ khí/tấn nguyên liệu/giờ là phù hợp nhất.

(4) Kết quả xác định pH ban đầu

Sau khi điều chỉnh pH ban đầu trong hầm ủ ở các mức khác nhau, sự thay đổi của pH khối ủ được trình bày ở bảng 3.3.33 các thông số của bán thành phẩm sau khi ủ được trình bày ở bảng 3.3.34.

Bảng 3.3.33. Diễn biến pH trong khối ủ theo thời gian

pH ban đầu 5,5-6,5		pH ban đầu 6,5-7,5		pH ban đầu 7,5-8,5	
Ngày	pH	Ngày	pH	Ngày	pH
1	5,7	1	7,0	1	8,0
2	4,5	2	5,3	2	5,4
3	4,8	3	5,0	3	5,2
4	5,1	4	4,8	4	5,6
5	5,5	5	5,6	5	5,7
6	6,1	6	6,5	6	6,6
7	7,0	7	7,4	7	7,3

8	8,3	8	8,6	8	8,7
9	8,9	9	9,0	9	9,3
10	9,1	10	9,1	10	9,4
11	8,5	11	8,7	11	8,9
12	8,3	12	8,6	12	8,8
13	8,0	13	8,4	13	8,6
14	7,8	14	8,3	14	8,5
15	7,9	15	8,3	15	8,5
16	7,6	16	8,2	16	8,4
17	7,9	17	8,1	17	8,1
18	7,1	18	8,0	18	8,3
19	7,2	19	7,9	19	8,2
20	7,0	20	7,7	20	7,7
21	7,1	21	7,5	21	7,8
22	6,9	22	7,4	22	7,6
23	6,7	23	7,0	23	7,1
24	6,6	24	6,9	24	6,8
25	6,4	25	6,8	25	7,0

Kết quả cho thấy pH của khối ủ thay đổi theo thời gian. Trong cả 3 mức pH ban đầu khác nhau, sự thay đổi pH đều theo quy luật khá giống nhau, pH giảm trong 3-4 ngày đầu tiên, sau đó tăng lên dần đến ngày thứ 10, và giảm dần từ những ngày tiếp theo. Sự suy giảm pH trong những ngày đầu tiên là do quá trình phân huỷ các chất hữu cơ bởi VSV, thải ra các acid và làm giảm pH, quá trình này tiếp tục làm cho acid tích tụ và làm pH tiếp tục giảm trong vài ngày tiếp theo. Mặt khác, trong những ngày đầu tiên, quá trình hoạt động của VSV rất mạnh mẽ đã làm cho nhiệt độ của khối ủ tăng cao, có thể lên đến 55 °C, điều này đã làm cho pH giảm rất nhanh. Trong giai đoạn tiếp theo, lượng chất hữu cơ đã giảm dần, hoạt động của VSV cũng bước vào giai đoạn ổn định, hàm lượng acid tạo ra giảm nên pH của khối ủ được tăng dần cho đến ngày thứ 10. Từ những ngày tiếp theo, quá trình ủ bước vào giai đoạn ổn định và chín, pH của khối ủ được ổn định và giảm nhẹ về mức trung tính.

Bảng 3.3.34. Các thông số bán thành phẩm hữu cơ sau khi ủ

STT	pH ban đầu trong khối ủ	Thời gian ủ (ngày)	pH sau khi ủ	Nhiệt độ (t °C)	Độ ẩm (%)	Hàm lượng mùn (%)
1	5,5-6,5	25	6,7	25 - 30	25-30	29,1
2	6,5-7,5	25	6,9	25 - 30	25-30	29,7
3	7,5-8,5	25	7,2	25 - 30	25-30	29,3

Kết quả đánh giá các thông số của bán thành phẩm sau khi ủ với pH ban đầu khác

nhau cho thấy, sự thay đổi pH ban đầu trong khoảng 5,5-8,5 không ảnh hưởng nhiều đến quá trình ủ cũng như hàm lượng mùn của bán thành phẩm hữu cơ. Điều này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây, pH thích hợp cho quá trình ủ là 5,5-8,5. Tuy nhiên, để tiết kiệm hoá chất trong quá trình điều chỉnh pH ban đầu của khối ủ, lựa chọn pH ban đầu thích hợp cho quá trình ủ là 6,5-7,5.

(5) Xác định độ ẩm thích hợp cho quá trình ủ

Độ ẩm của khối ủ giảm xuống trong quá trình ủ do nhiệt độ tăng trong quá trình ủ cũng như hoạt động của VSV. Độ ẩm trong quá trình ủ được duy trì trong khối ủ ở 3 mức 20-35%; 35-50%, 50-65% trong suốt quá trình ủ nhằm đảm bảo độ ẩm cho hoạt động của VSV. Sau 25 ngày ủ, bán thành phẩm hữu cơ ở các hầm ủ được xác định các thông số như nhiệt độ, độ ẩm, pH cũng như độ mùn (bảng 3.3.35).

Bảng 3.3.35. Các thông số bán thành phẩm hữu cơ sau khi ủ ở các độ ẩm khác nhau

STT	Độ ẩm của khối ủ (%)	Thời gian ủ (ngày)	pH sau khi ủ	Nhiệt độ (t °C)	Hàm lượng mùn (%)
1	20-35	25	6,9-7,2	26 - 30	25,7
2	35-50	25	6,7-7,3	26- 30	31,2
3	50-65	25	6,7-7,4	26 - 30	28,4

Kết quả xác định các thông số của bán thành phẩm hữu cơ cho thấy độ ẩm không ảnh hưởng lớn đến các pH và nhiệt độ của bán thành phẩm hữu cơ, tuy nhiên có ảnh hưởng đến hàm lượng mùn của bán thành phẩm hữu cơ. Hàm lượng mùn của bán thành phẩm hữu cơ đạt cao nhất, 31,2% khi độ ẩm của khối ủ đạt 35-50%, trong khi đó hàm lượng mùn của bán thành phẩm hữu cơ giảm đi sau khi tăng hay giảm độ ẩm của khối ủ. Trên cơ sở khảo sát độ ẩm thích hợp cho quá trình ủ, lựa chọn độ ẩm thích hợp cho quá trình ủ là 35-50%.

(6) Kiểm tra chất lượng phân bón vi sinh POLYFA TN3:

Thực hiện kiểm tra chất lượng chế phẩm vi sinh POLYFA TN3 theo tiêu chuẩn Việt Nam về phân bón hữu cơ vi sinh **TCVN 7185 : 2002**. Kết quả sau kiểm tra thu được như sau:

Độ chín: đạt; Kích thước hạt: đồng đều; Độ ẩm: 28%; pH: 7,1

Mật độ VSV: 10^6 CFU/g

Các chất đa lượng và vi lượng đạt: hữu cơ 15,6 %; N 1%; P 3%; K 1%; vi lượng: 0,001%.

(7) Xác định thời gian bảo quản chế phẩm POLYFA TN3

Phân bón vi sinh POLYFA TN3 được bảo quản trong điều kiện khô ráo, thoáng mát, mật độ và hoạt tính sinh học của các chủng VSV trong phân bón được kiểm tra trong các mốc thời gian là 0, 2, 4, 6, 8, 10 và 12 tháng để xác định thời gian bảo quản là bao lâu (bảng 3.3.36, bảng 3.3.37, bảng 3.3.38).

Bảng 3.3.36. Mật độ và hoạt tính sinh học của các chủng Bacillus trong phân bón vi sinh POLYFA TN3 trong các mốc thời gian bảo quản

Thời gian (tháng)	Mật độ (CFU/g)	Vòng phân giải photphat (mm)	Kết tụ sinh học (%)	Sinh tổng hợp IAA ($\mu\text{g/ml}$)	Vòng kháng <i>R.solani</i> (mm)	Vòng kháng <i>F.oxysporum</i> (mm)	MIC _{Fe} (mM)	MIC _{Al} (mM)
0	4,3-5,3x10 ⁶	11,1-13,3	70-76	95,2-101,4	53,2-59,6	44,7-49,9	12	11
2	1,8-2,8x10 ⁶	10,9-12,5	71-73	94,5-99,3	50,3-55,5	43,5-47,7	12	11
4	1,1-1,6x10 ⁶	10,1-11,4	67-68	89,6-89,6	49,9-53,2	41,4-44,9	12	11
6	2,9-3,4x10 ⁵	9,8-11,3	62-67	83,3-85,9	44,7-48,6	39,7-41,3	11	10
8	1,5-1,9x10 ⁵	9,0-10,5	56-59	79,4-82,7	42,3-44,5	38,6-40,9	11	10
10	4,4-5,7x10 ⁴	8,3-9,5	51-58	75,9-80,2	40,9-41,7	35,7-39,2	11	10
12	1,2-1,8x10 ⁴	8,1-9,2	51-55	74,5-79,5	38,9-40,5	35,1-38,9	11	10

Kết quả cho thấy, mật độ các chủng VSV trong chế phẩm giảm dần theo thời gian bảo quản, tuy nhiên hoạt tính sinh học (đổi kháng nấm bệnh, kết tụ sinh học, phân giải phosphate, sinh tổng hợp IAA) của chúng vẫn còn khá tốt và mật độ vẫn đảm bảo theo quy định đối với phân bón hữu cơ vi sinh sau 12 tháng bảo quản. Vì vậy, thời gian bảo quản khuyến cáo là 12 tháng.

*Bảng 3.3.37. Mật độ và hoạt tính đối kháng của XK *S.diastatochromogenes* CS5.11cdk đối với nấm bệnh *F. oxysporum**

Thời gian	Mật độ (CFU/g)	Hoạt tính đối kháng <i>F.oxysporum</i>
Ban đầu	2,4x10 ⁶	16,8
2 tháng	1,5x10 ⁶	16,5
4 tháng	4,2x10 ⁵	16,3
6 tháng	2,7x10 ⁵	15,9
8 tháng	1,6x10 ⁵	15,7

10 tháng	4,2x10 ⁴	15,5
12 tháng	1,4x10 ⁴	15,3

Bảng 3.3.38. Hoạt tính đối kháng của vi nấm *P. oxalicum* N1CS1trk và *P. oxalicum* TiN1 đối với nấm bệnh

Thời gian	Mật độ <i>Penicilium oxalicum</i> N1CS1trk (CFU/g)	Mật độ <i>Penicilium oxalicum</i> TiN1 (CFU/g)	Hoạt tính đối kháng <i>F.oxysporum</i> của <i>Penicilium oxalicum</i> N1CS1trk (%)	Hoạt tính đối kháng <i>R. solani</i> của <i>Penicilium oxalicum</i> TiN1(%)
Ban đầu	2,2x10 ⁶	1,9x10 ⁶	75,8	15,9
2 tháng	1,6x10 ⁶	1,6x10 ⁶	74,9	15,7
4 tháng	4,4x10 ⁵	3,7x10 ⁵	74,6	14,9
6 tháng	2,6x10 ⁵	2,3,x10 ⁵	72,9	14,7
8 tháng	1,6x10 ⁵	1,6x10 ⁵	70,7	13,9
10 tháng	3,2x10 ⁴	3,4x10 ⁴	66,9	13,7
12 tháng	1,3x10 ⁴	1,1x10 ⁴	65,8	13,5

3.4.2.3. Quy trình sản xuất chế phẩm POLYFA TN3 quy mô công nghiệp

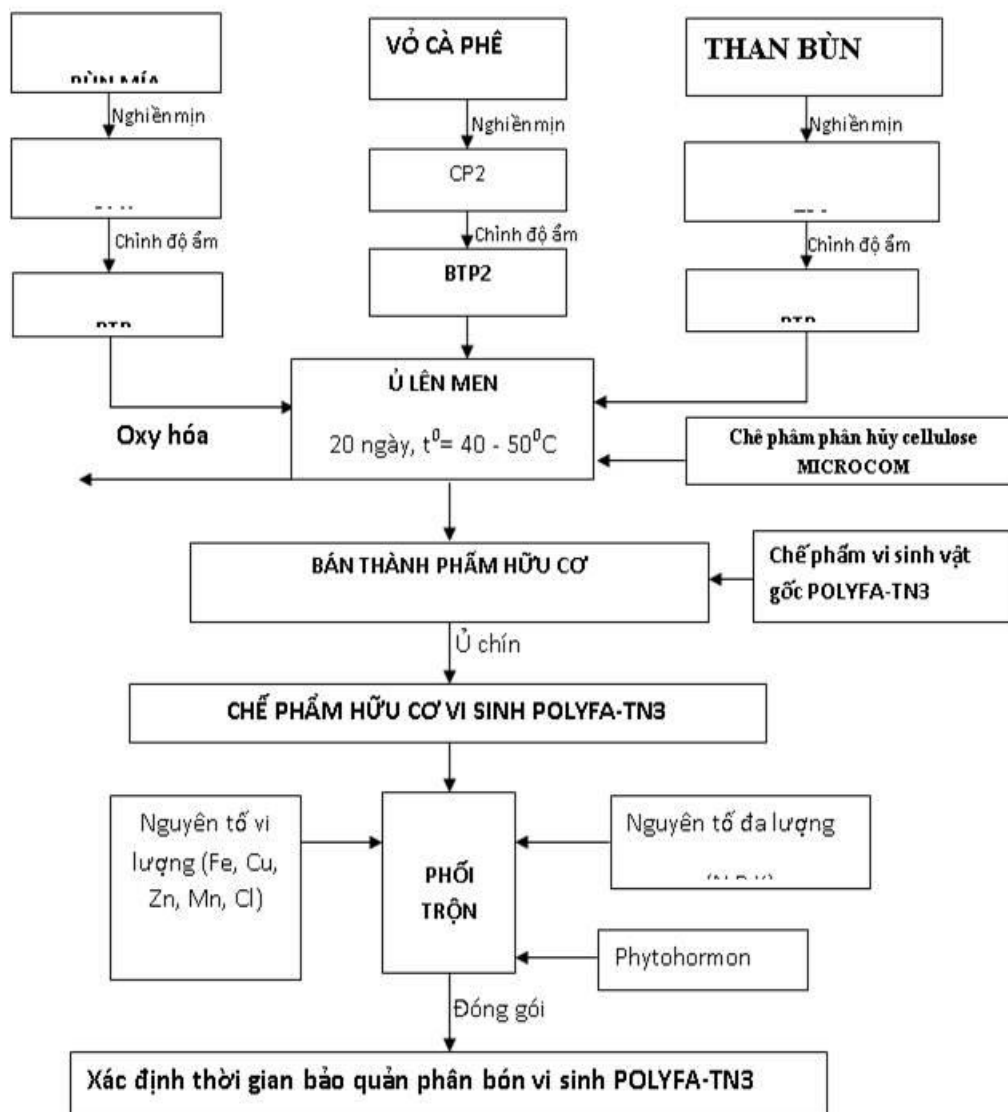
Từ các kết quả nghiên cứu đã hoàn thiện quy trình sản xuất chế phẩm POLYFA TN3 quy mô công nghiệp với thể tích khối ủ từ 100 m³ như sau (hình 3.3.1)

Mô tả quy trình:

Bước 1. Xử lý nguyên liệu ban đầu: nguyên liệu (than bùn, bùn mía, vỏ cà phê) được sàng lọc, sấy khô đạt độ ẩm 30-40%, sau đó nghiền mịn (kích thước nguyên liệu sau nghiền 2-4mm).

Bước 2. Lên men tạo bán thành phẩm hữu cơ: phối trộn các nguyên liệu gồm chế phẩm phân giải cellulose, than bùn, bã mía, vỏ cà phê theo tỷ lệ 1/1000: 1: 1:1 tương ứng, đảo đều theo phương pháp tăng dần khối lượng bằng máy trộn bê tông gia công hoặc bằng tay. Hỗn hợp trên được ủ lên men trong các hầm ủ có thể tích 100m³ khoảng 15 - 20 ngày. Nhiệt độ trong quá trình lên men khoảng 40 - 50 °C.

Bước 3. Ủ chín: bán thành phẩm hữu cơ được ủ với chế phẩm VSV gốc POLYFA TN3 theo tỷ lệ 1000: 1 trong hầm ủ thể tích 100m³; lượng khí nạp vào hầm ủ 5 m³ khí/tấn nguyên liệu/giờ; pH ban đầu trong hầm ủ được điều chỉnh là 6,5-7,5; độ ẩm ban đầu được kiểm soát ở 35 - 50%; thời gian ủ chín khoảng 10 - 15 ngày (chế phẩm hữu cơ vi sinh POLYFA TN3).



Hình 3.3.1. Quy trình tạo chế phẩm POLYFA TN3

Bước 4. Phối trộn: thực hiện quá trình phối trộn chế phẩm hữu cơ vi sinh POLYFA TN3 với các nguyên tố đa lượng (N.P.K), vi lượng (Fe, Cu, Zn, Mn, Cl) và phytohormon theo tỷ lệ 100: 3: 1: 1 tương ứng. Tiến hành trộn đều theo phương pháp tăng dần khối lượng bằng máy trộn bê tông gia công hoặc bằng tay. Sàng và thu hồi sản phẩm, đồng thời tạo viên trên máy tạo viên nếu cần. Đóng trong bao PE khối lượng 50kg.

Bước 5. Kiểm tra chất lượng phân bón: phân bón vi sinh POLYFA TN3 được kiểm tra chất lượng theo tiêu chuẩn Việt Nam về phân bón hữu cơ vi sinh **TCVN 7185 : 2002**. Kết quả sau kiểm tra thu được như sau: Độ chín: đạt; Kích thước hạt: đồng đều; Độ ẩm: 28%; pH:

7,1; Mật độ VSV: 10^6 CFU/g; Các chất đa lượng và vi lượng đạt: hữu cơ 15,6 %; N 1%; P 3%; K 1%; vi lượng: 0,001%.

Bước 6. Xác định thời gian bảo quản: mật độ VSV trong phân bón ban đầu (thời gian bảo quản 0 tháng) đạt 10^6 CFU/g, sau đó, giảm dần theo thời gian bảo quản và sau 12 tháng còn 10^4 CFU/g. Tuy nhiên hoạt tính sinh học (đôi kháng nấm bệnh, kết tụ sinh học, phân giải phosphate, sinh tổng hợp IAA) của chúng vẫn còn khá tốt và mật độ vẫn đảm bảo theo quy định đối với phân bón hữu cơ vi sinh sau 12 tháng bảo quản. Vì vậy, thời gian bảo quản khuyến cáo đưa ra là 12 tháng.

3.4.2.4. Sản xuất 50 tấn chế phẩm POLYFA TN3

Sau khi nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất và đánh giá chất lượng chế phẩm POLYFA TN3, tiến hành sản xuất chế phẩm để phục vụ nghiên cứu khảo nghiệm, xây dựng quy trình sử dụng, quy trình tích hợp các chế phẩm sinh hóa học và mô hình trình diễn. Kết quả trong 2018-2019, đã tiến hành sản xuất được 50 tấn chế phẩm POLYFA TN3, sản phẩm được bàn giao cho các đơn vị thực hiện các nội dung tiếp theo

3.4.3. Nghiên cứu khảo nghiệm đánh giá tác dụng đối với cây cà phê và hồ tiêu của chế phẩm POLYFA TN3

3.4.3.1. Kết quả khảo nghiệm diện rộng cây cà phê

a) *Nhận xét tình hình sinh trưởng, phát triển của cây trồng trong thí nghiệm:*

+ Đối với cây cà phê giai đoạn kiến thiết:

Vườn cà phê tái canh bằng cách ghép chồi (TR4) trên gốc cà phê cũ (cà phê cũ đã trồng năm 1995) nên nông dân đã ghép 3-4 chồi/gốc vì vậy số thân chính trên một gốc không phải 1 mà thường 3 hoặc 4. Đồng thời nông dân có hãm ngọn sau 2 năm ghép. Hai chỉ tiêu chiều cao cây và số thân chính trên gốc không phụ thuộc vào chế độ phân bón, nó phụ thuộc vào cách làm của người dân. Các chỉ tiêu còn lại: số cành thứ cấp/cây, chiều dài cành thứ cấp, tăng trưởng cành và đường kính cành thứ cấp phản ánh khả năng đáp ứng phân bón. Công thức thí nghiệm (2,5 kg POLYFA TN3/gốc) đều có 2 chỉ tiêu số cành thứ cấp/cây và chiều dài cành thứ cấp có tăng so với đối chứng nhưng khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê vì 2 chỉ tiêu này của cà phê tái canh là cành cấp 1 (từ thân) nên gần như có định đối với cùng giống. Hai chỉ tiêu tăng trưởng cành và đường kính cành cấp 1 đã tăng có ý nghĩa thống kê chứng tỏ chế phẩm POLYFA TN3 đã thể hiện khả năng kích thích sinh

trường cà phê tái canh. Vườn thí nghiệm do có 3-4 thân chính/gốc nên số cành cấp 1 đạt trên 50 cành/gốc bằng $\frac{1}{2}$ số cành của cà phê thời kỳ kinh doanh. Đây là số cành cho quả khá lớn nên một số cây biểu hiện sinh trưởng chậm, có thể lượng phân 2,5 kg/gốc POLYFA TN3 chưa đáp ứng nổi bộ khung tán lá cà phê tái canh quá lớn. Điều này có thể ảnh hưởng đến sự phân cành cấp 2 cho những năm sau.

+ Đối với cây cà phê giai đoạn lâu năm 23 năm tuổi: Đối với cà phê, cấu trúc tán lá vừa phục vụ cho năng suất niên vụ hiện tại vừa tiềm năng cho năng suất năm sau. Tán lá bao gồm số cành, chiều dài cành, số mắt lá, số lá và màu sắc tán lá phản ánh sức sinh trưởng của cây và vườn cà phê. Cấu trúc tán được phản ánh qua số lượng cành thứ cấp (cấp 2 hoặc cấp 3), tăng trưởng chiều dài cành, đường kính cành là các chỉ tiêu cơ bản. Sử dụng chế phẩm POLYFA TN3 không chỉ đáp ứng năng suất năm hiện tại mà còn có ý nghĩa đáng khích lệ cho năm sau. Số cành thứ cấp trên 100 cành/cây kết hợp đường kính cành > 4,2 m là số lượng cành vừa đủ không quá dày cũng không quá thưa, phản ánh sức sinh trưởng của vườn cây tốt. Chiều dài cành thứ cấp > 85 cm và tăng trưởng cành sau 6 tháng xấp xỉ 50 cm thể hiện cây đủ dinh dưỡng. Với chiều dài cành 85 cm tương ứng với 15-18 đốt hay 15-18 cặp lá và các lá đều xanh đúng màu (xanh thẫm) là cơ sở cho năng suất năm sau đạt khá. Sự phân bố các cành cân đối. Công thức thí nghiệm (2,5 kg POLYFA TN3/gốc tương ứng với 2,7 tấn/ha) và CT Đ/C (2,5 kg phân chuồng hoai mục/gốc) cho số cành thứ cấp không khác biệt có ý nghĩa thống kê nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê đối với chiều dài cành, tăng trưởng cành và đường kính cành, tuy sự khác biệt không quá lớn. Chứng tỏ chế phẩm POLYFA TN3 có giá trị dinh dưỡng, sự cân đối về các nguyên tố khoáng tốt hơn phân chuồng hoai mục. Cà phê lâu năm (đối với vườn thí nghiệm đã 23 năm) thường có sức sinh trưởng cành giảm sút, phân bố các cành không cân đối nên năng suất giảm dần. Chế phẩm POLYFA TN3 đã khắc phục được hiện tượng trên.

b) *Các yếu tố cấu thành năng suất và bội thu năng suất:*

- Đối với cà phê tái canh, cả 3 chỉ tiêu: tỷ lệ rụng quả, số chùm quả/cành, số quả/chùm của công thức có bón chế phẩm POLYFA TN3 đều khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô Đ/C. Tỷ lệ rụng quả đã giảm 5,4% (giống như cà phê lâu năm); số chùm quả tăng nhẹ (chỉ 1%) nhưng số quả/chùm đã tăng đáng kể (5,4%).

Vườn cà phê tái canh, năm 2018 là năm cho năng suất đầu tiên, năm 2017 có một số cây có quả nhưng số lượng không đáng kể (năm bó). Nhờ số cành mang quả/cây, số chùm quả/cành, số quả/chùm và giảm tỷ lệ rụng quả nên năng suất vườn đã tăng đáng kể (thông thường năm đầu tiên có thu hoạch của cà phê mới trồng chỉ đạt 0,5-0,6 tấn/ha).

Cả 3 chỉ tiêu: năng suất quả tươi/cây, năng suất quả tươi/ha và năng suất nhân khô/ha của lô thí nghiệm đều cao hơn lô đối chứng; sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Năng suất nhân của lô thí nghiệm vườn tái canh đạt gần 1,8 tấn/ha. Đây là kết quả khá cao so với các vườn tái canh khác. Nông hộ chủ vườn cà phê tái canh đã đầu tư phân bón (năm trước có bón phân chuồng) và chăm sóc tốt (mặc dù giá bán khá thấp) nên lô Đ/C vẫn đạt trên 1,5 tấn/ha. Năng suất nhân của lô thí nghiệm chỉ tăng 17,7% so với lô đối chứng.

- Đối với cà phê lâu năm: Yếu tố cấu thành năng suất đối với cà phê bao gồm: số cây thực thu trên vườn, số cành thứ cấp/cây, số chùm quả/cành, số quả/chùm và quan trọng nhất là tỷ lệ rụng quả. Quả cà phê cũng như nhiều cây ăn quả khác có tỷ lệ rụng khá cao; tỷ lệ rụng sẽ tác động mạnh tới năng suất. Một nghiên cứu khá đầy đủ về tỷ lệ rụng quả cà phê với cho thấy, các vườn bình thường có tỷ lệ rụng quả 35-40% số quả ban đầu. Thời gian mang quả cà phê khá dài (trên 10 tháng) càng có nhiều giai đoạn cho quả rụng. Một lý do gây rụng quả là sâu bệnh, sâu bệnh nếu có sẽ tác động mạnh tới hiện tượng rụng quả. Lô thí nghiệm có tỷ lệ quả rụng thấp hơn đáng kể lô đối chứng (bón phân chuồng hoai mục) giảm 5,4%.

Năng suất quả tươi/cây, năng suất quả tươi/ha và năng suất nhân (hạt khô)/ha đều tăng đáng kể so với đối chứng và có ý nghĩa thống kê. Vườn thí nghiệm là vườn cà phê khá lâu năm (23 năm). Đa số các vườn loại này năng suất đã giảm đáng kể, khó vượt qua 3,5 tấn nhân/ha; cộng thêm 2 niên vụ (2016-2017 và 2017-2018) giá cà phê khá thấp làm người nông dân giảm đầu tư phân bón và chăm sóc (bình thường giá cà phê nhân khoảng 50.000 đ/kg; trong 2 niên vụ trên giá dưới 40.000 đ/kg). Để đạt năng suất 3,93 tấn/ha là kết quả của sử dụng chế phẩm POLYFA TN3. Năng suất vườn thí nghiệm đã tăng 27% so với đối chứng. Kết quả này là sự phối hợp của các yếu tố: giảm tỷ lệ rụng quả + tăng số quả/chùm dẫn đến năng suất quả tươi/cây tăng.

Chế phẩm POLYFA TN3 đã cải thiện đáng kể các chỉ tiêu cấu thành năng suất và năng suất của 2 loại vườn cà phê lâu năm và cà phê tái canh, tăng các yếu tố cấu thành năng suất và tăng đáng kể năng suất

c) *Hiệu quả kinh tế của chế phẩm khảo nghiệm:*

- Đối với cà phê kiến thiết: Khi bón POLYFA TN3 cho cà phê tái canh chi phí do phân bón tăng thêm 4,125 triệu đồng nhưng lợi nhuận tăng thêm: 9.720.000 đồng triệu đồng; vì vậy tỷ suất lợi nhuận tăng thêm: 2,35.

- Đối với cà phê lâu năm: Khi bón POLYFA TN3 cho cà phê lâu năm chi phí do phân bón tăng thêm 4,125 triệu đồng nhưng lợi nhuận tăng thêm: 30,240 triệu đồng; vì vậy tỷ suất lợi nhuận tăng thêm: 7,33.

Lợi nhuận lâu dài là khi bón chế phẩm POLYFA TN3 là đất đai, VK có ích trong đất tăng, bộ rễ cà phê phục hồi hoặc tăng số lượng rễ, tăng khả năng kháng bệnh cho những năm tiếp theo.

d) *Đánh giá tính chất đất được cải thiện, khả năng làm tăng miễn dịch cây trồng đối với chế phẩm có chất cải tạo đất, phân bón có tác dụng làm tăng miễn dịch cho cây trồng:*

Đánh giá tác động của POLYFA TN3 đối với sâu bệnh hại cà phê

- *Đối với vườn tái canh:* Vườn tái canh cà phê là vườn ghép giống cà phê chất lượng cao (TR4), kháng bệnh lên gốc cà phê đã lâu năm vì vậy nguồn đất đã có các VK gây hại và bộ rễ vẫn là cà phê giống cũ, khả năng kháng bệnh kém. Trước thí nghiệm vườn đã bị vàng lá và rệp sáp nhẹ, nông hộ chưa sử dụng bất kỳ thuốc BVTV hoá học nào. Sau thí nghiệm đối với lô thí nghiệm cả 2 bệnh đã giảm hẳn, từ 7,3% còn 2,2% và 4,8% còn 1,3%. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ bệnh trên nông dân không dùng thuốc BVTV, cây cà phê sẽ dần dần phục hồi nhờ giống. Ngoài 2 sâu bệnh trên (bệnh vàng lá và rệp sáp), cả 2 vườn thí nghiệm có bị bệnh rỉ sắt nhưng không đáng kể; các sâu bệnh khác chưa thấy xuất hiện. Trước đây vườn cà phê ở Tây Nguyên thường bị ve sầu đất tấn công (phá huỷ bộ rễ và chit hút thân/cành) nhưng hiện nay ve sầu đất không đáng kể.

- *Đối với vườn lâu năm:* Vườn thí nghiệm có tỷ lệ bệnh vàng lá và rệp sáp khá thấp so với các vườn xung quanh. Những cây bị vàng lá hầu như không phục hồi được do bộ rễ đã thối, hỏng gần như toàn bộ. Lô thí nghiệm đã làm giảm đáng kể bệnh vàng lá (bệnh nguy hiểm nhất đối với cà phê) và rệp sáp (giảm gần 6% và 4%). Sự khác biệt này có ý nghĩa

thông kê. Chế phẩm POLYFA TN3 có đặc tính đáng quý là cải tạo đất, ức chế hoặc tiêu diệt các nguồn gốc gây bệnh vàng lá (ức chế hoặc tiêu diệt Phytophthora, Fusarium, Rhizoctonia) nên đã giúp bộ rễ cà phê kháng được VK gây hại.

Chế phẩm POLYFA TN3 đã giúp cây cà phê cả cà phê lâu năm lẫn tái canh vượt qua được chướng ngại sâu bệnh tấn công. Vườn cà phê sinh trưởng bình thường, một số cây mới chớm vàng lá đã khắc phục được.

Tác động của POLYFA TN3 đến tính chất đất

- Thay đổi kết cấu đất: Kết cấu đất rất quan trọng trong lưu giữ và cung cấp dinh dưỡng cho cây trồng. Kết cấu đất tốt còn góp phần giảm khả năng xói mòn. Kết quả đánh giá kết cấu đất cho thấy bón chế phẩm POLYFA TN3 đã làm giảm đáng kể tỷ lệ sét, giảm nhẹ tỷ lệ cát nhưng tăng hàm lượng limon và cải thiện đáng kể độ xốp trên đất trồng cà phê. Vườn trồng cà phê, cả cà phê lâu năm và cà phê tái canh đều trên đất nâu đỏ nhưng đã trồng lâu năm (23 năm) sử dụng phân bón không hợp lý đã làm xấu kết cấu đất.

Trong các thành phần tạo thành kết cấu đất, thành phần limon quan trọng nhất (phản ánh tính chất “thịt” của đất). Độ xốp cao, tỷ trọng thấp, khả năng lưu giữ ion khoáng nhờ chủ yếu vào hệ limon. Chế phẩm POLYFA TN3 cải thiện tốt kết cấu đất, tăng hàm lượng limon, độ xốp giúp cây lưu giữ phân khoáng và hô hấp hệ rễ. Kết quả cho thấy khi bón chế phẩm POLYFA TN3 có giảm tỷ lệ sét, giảm tỷ lệ cát và tăng limon; không phải do phân đã làm biến đổi cát, sét thành limon mà giảm sự rửa trôi, khi rửa trôi thành phần các hạt keo đất bị trôi không giống nhau vì vậy đã làm thay đổi tỷ lệ cát, sét, tăng hàm lượng limon.

- Thay đổi đặc tính nông hoá đất sau sử dụng POLYFA TN3: Cà phê được trồng trên nhiều loại đất khác nhau, tuy nhiên tốt nhất là trên đất nâu đỏ-đất đỏ bazan. Đất nâu đỏ có tầng canh tác dày (>2,0 m), nhiều chỗ có thể >3,0 m; tỷ lệ đất thịt nhiều >70%; tỷ lệ đất cát thấp (<12%); đất có khả năng giữ nước và cung cấp nước cho cây trồng tốt; pH chua hoặc rất chua (4,0-5,5); hàm lượng N trung bình; hàm lượng P tổng số cao (0,15-0,25%) nhưng hàm lượng P dễ tiêu thấp (15-20 mg/100 gam đất); hàm lượng kali tổng số và dễ tiêu đều thấp (kali tổng số <0,1% và kali dễ tiêu <15 mg/100 gam đất).

Tuy loại đất nâu đỏ (bazan) thuận lợi cho nhiều loại cây trồng, nhưng số năm canh tác dài, tập quán người dân quen bón phân vô cơ khá nhiều năm đã làm tăng sự thoái hoá của

đất, các tính chất quý giá của đất nâu đỏ đã thay đổi theo hướng xấu: đất chặt hơn, độ tơi xốp giảm, hàm lượng mùn giảm, lân không hoà tan tăng lên, giảm lượng kali.

Sự biến đổi về hoá tính đất qua 2 công thức bón phân khác nhau, độ pH đất thay đổi nhẹ theo hướng bớt chua hơn (tăng nhẹ 0,1 đến 0,2 độ); hàm lượng N, P, K tổng số tăng nhẹ; hàm lượng lân dễ tiêu, kali dễ tiêu tăng khá; các cation trao đổi tăng nhẹ làm khả năng hấp phụ và trao đổi dinh dưỡng tăng lên đáng kể. Khi bón chế phẩm POLYFA TN3 các tính chất hóa tính của đất biến đổi theo chiều hướng tích cực hơn. Như vậy, chế phẩm POLYFA TN3 ngoài bổ sung dinh dưỡng cho cây còn cải thiện các đặc tính tăng khả năng hấp thụ dinh dưỡng khoáng.

Với đặc tính trên nếu bón POLYFA TN3 với lượng đủ lớn ($\geq 2,5$ kg/gốc tương đương với 3,0-3,5 tấn/ha) có thể giảm lượng phân vô cơ, đặc biệt giảm lượng phân đạm sinh trưởng, năng suất của cà phê vẫn ổn định nhưng kết cấu đất, kết cấu chất khoáng trong đất sẽ ngày càng tốt hơn. Chế phẩm POLYFA TN3 có tác dụng tốt trong cải tạo đặc tính nông hoá của đất, nhất là vườn đã sản xuất lâu năm (cả 2 vườn thí nghiệm: lâu năm hoặc tái canh đều trồng cà phê trên 23 năm).

- Thay đổi VSV đất sau sử dụng POLYFA TN3

Đặc điểm quan trọng của chế phẩm POLYFA TN3 ngoài cung cấp dinh dưỡng khoáng, phân còn cung cấp các VSV có lợi cho đất và cây trồng, kháng hoặc ức chế các vi nấm, VK gây bệnh.

Bằng cả 2 phương pháp cảm quan đánh giá qua vườn cây (biểu hiện trên lá, rễ) và phân tích số lượng vi sinh từng nhóm đã minh chứng khả năng cải tạo nhóm VSV trong đất sau khi sử dụng chế phẩm POLYFA TN3.

Biểu hiện qua hình thái vườn cây

Vườn cà phê (cả lâu năm lẫn tái canh) đều sinh trưởng bình thường, có biểu hiện tốt hơn qua màu sắc lá xanh thẫm, dày; phiến không xuất hiện chấm khô nhỏ; kích thước lá lớn hơn, dày hơn, gân lá biểu hiện rõ rệt hơn; rễ tơ nhiều hơn, màu trắng không bị vàng, nâu, u sưng. Số lượng cành thứ cấp nhiều, cân đối, cây đã phát huy tốt khả năng sinh cành. Riêng vườn cà phê tái canh vẫn còn xuất hiện một số cây màu sắc lá chưa thể hiện đúng màu xanh thẫm, có vàng lá nhẹ (biểu hiện của thiếu phân, không phải do bệnh) với tỷ lệ nhỏ (<3%). Có lẽ lượng chế phẩm POLYFA TN3 chưa đủ cho nhu cầu sinh lý của cây. Cà

phê tái canh đã ghép trên gốc cà phê già nên bộ rễ vẫn hoạt động mạnh. Vườn cà phê lâu năm có một số cây bị vàng lá (vàng lá do bệnh) chưa khắc phục được; có lẽ bộ rễ cây này cần thời gian phục hồi lâu hơn.

Thể hiện qua nhóm VSV chủ yếu trong đất

VSV trong đất là đối tượng quan tâm nhất khi sử dụng phân bón; đối tượng quan tâm không chỉ của người nghiên cứu mà người sản xuất cũng quan tâm nhiều hơn. Đây là mối quan tâm lớn nhất của các tỉnh Tây Nguyên từ nhà quản lý, nhà khoa học và người sản xuất.

Trong nhóm VSV trong đất có nhóm có lợi (giúp cây kháng bệnh, cố định đạm, phân giải lân khó tiêu...), điển hình là 2 chi: Trichoderma và Azotobacter. Trichoderma đối kháng với VSV gây bệnh rễ, phân giải cellulose. Azotobacter cố định đạm, tạo NAA giúp hệ rễ sinh trưởng tốt hơn. Bản thân chế phẩm POLYFA TN3 đã chứa 2 nhóm VSV trên (trong phân $> 10^7$) khi bón vào đất, số lượng vi sinh trên đã sinh sôi, tạo nguồn vi sinh đối kháng với vi sinh gây bệnh và tăng khả năng tạo thành mùn cho đất.

Chế phẩm POLYFA TN3 đã đối kháng với vi sinh và tuyến trùng gây hại cho cà phê. Trong số các vi nấm gây hại có 2 nhóm Phytophthora và Pythium gây hại đáng sợ nhất, chúng gây ra bệnh héo xanh (chết nhanh). Cùng với vi nấm nói trên còn có tuyến trùng Pratylenchus, Meloidogyne và rệp sáp gây ra héo vàng (chết chậm). Các tác nhân trên gây thối và huỷ diệt bộ rễ cà phê, chúng rất khó phòng trừ do chưa có thuốc hoá học đặc trị và tốn nhiều thuốc, gây hại cho đất và nước ngầm. Cách đây 18 năm (khoảng năm 2000) bệnh chết nhanh, vàng lá chưa đáng kể, chưa tạo thành dịch, nhưng hiện nay bệnh trên đã là nỗi ám ảnh của tất cả các hộ trồng cà phê, đặc biệt tái canh cà phê. Các năm 2010 – 2015 nhiều vườn cà phê đã sử dụng thuốc hoá học phòng trừ bệnh chết nhanh, chết chậm với số lượng lớn (vài chục kg hoặc cả tạ/ha) nhưng hiệu quả không cao và nguy hiểm hơn là để lại dư lượng trong đất và trong nông sản (cà phê nhân). Trong 3-4 năm gần đây (từ 2015) hầu như nông dân không sử dụng thuốc hoá học để phòng trừ bệnh chết nhanh, chết chậm.

Trong chế phẩm POLYFA TN3 có các VK phân giải xenlulose, cố định N, phân giải lân khó tiêu; các VSV này hoạt động có hiệu quả khi nền đất đủ hàm lượng các chất hữu cơ. Sau 3 tháng bón chế phẩm POLYFA TN3 số lượng các sinh vật gây hại đã giảm hẳn,

gần đạt đến ngưỡng không gây hại (nếu $< 10^1$). Các lô đối chứng có giảm số lượng nhưng vẫn còn cao.

Điều này đã giúp vườn cà phê không bị bệnh từ rễ. Nếu tiếp tục bón tiếp chế phẩm POLYFA TN3 vào năm thứ 2 và thứ 3 tiếp theo hy vọng nguồn gây bệnh từ đất sẽ giảm hẳn, số lượng sinh vật gây bệnh từ đất sẽ dưới ngưỡng gây hại.

3.4.3.2. Kết quả khảo nghiệm diện rộng cây cà phê hồ tiêu

a) Nhận xét tình hình sinh trưởng, phát triển của cây trồng trong thí nghiệm

- Đối với vườn hồ tiêu giai đoạn kiến thiết: Sinh trưởng của cây trồng bị chi phối rất lớn bởi chế độ dinh dưỡng mà phân hữu cơ sinh học là nguồn cung cấp các yếu tố dinh dưỡng thiết yếu cho cây. Một chế độ dinh dưỡng tốt sẽ giúp cây phát triển tốt bộ cành mang quả là cơ sở cho năng suất cao. Nếu không cung cấp đầy đủ dinh dưỡng cây sẽ sinh trưởng chậm, cằn cỗi, số cành mang quả ít, ngắn... năng suất sẽ giảm, đặc biệt cho những năm tiếp theo. Với chế phẩm POLYFA TN3 qua thời gian thử nghiệm là 1 năm và đã theo dõi sự sinh trưởng của cành cơ bản của vườn hồ tiêu KTCB. Đối với vườn hồ tiêu KTCB cây vừa phủ trụ (cao 3,2 - 3,6 m), các cành cơ bản đều là cành tơ, có khả năng hình thành cành thứ cấp cho những năm sau và thu được kết quả khi sử dụng chế phẩm POLYFA TN3 trên hồ tiêu KTCB đã có sự khác nhau đáng kể về sinh trưởng với chỉ tiêu chiều dài cành cơ bản vào các tháng cuối niên vụ (từ tháng 11 trở đi) và sự sai khác này có ý nghĩa thống kê. Sinh trưởng chiều dài cành cơ bản tăng nhanh hơn so với đối chứng (tăng 60,8 cm ở ô thí nghiệm / 58,3 cm ở ô đối chứng). Chiều dài cành thứ cấp ở cây hồ tiêu là yếu tố quan trọng vì nó ảnh hưởng trực tiếp đến sự ổn định năng suất hồ tiêu cho năm tiếp theo. Chiều dài cành thứ cấp phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố mà một trong những yếu tố tác động mạnh nhất là chế độ dinh dưỡng. Để đánh giá được chính xác hơn về hiệu lực của phân bón POLYFA TN3 đến tăng trưởng cành thứ cấp vườn KTCB đã tiến hành theo dõi và đo chiều dài cành qua các đợt Phân tích kết quả số liệu từ bảng 3.3 cho thấy: sự tăng trưởng chiều dài cành thứ cấp chưa có sự khác biệt đáng kể sau gần 1 năm sử dụng chế phẩm POLYFA TN3. Do hồ tiêu là cây ngày dài, khả năng sự tăng trưởng chiều dài cành thứ cấp phụ thuộc rất lớn từ lượng phân bón của năm trước. Vì vậy, sau 1 vụ sử dụng chế phẩm POLYFA TN3 sự tăng trưởng chiều dài cành thứ cấp chưa có sự khác biệt đáng kể

- Đối với vườn hồ tiêu giai đoạn kinh doanh: Vườn hồ tiêu thời kỳ kinh doanh do số năm khai thác khá lâu (15 năm tuổi) nên tốc độ sinh trưởng cành đã giảm; tốc độ ra lá mới – tức hình thành đốt mới trên cành không giảm nhưng chiều dài lóng giảm đáng kể vì vậy chiều dài cành cũng giảm theo. Khi bón chế phẩm POLYFA TN3 trên vườn hồ tiêu KD, chiều dài cành cơ bản thay đổi không đáng kể; chỉ sau 8 tháng bón phân, sự khác biệt mới có ý nghĩa thống kê (95%) 55,7/52,4 cm cho một cành cơ bản. Tương tự như chiều dài cành cơ bản, chiều dài cành thứ cấp chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê sau 10 tháng bón phân, mặc dù có sự gia tăng về giá trị tuyệt đối (21,8/20,2 cm).

b) *Các yếu tố cấu thành năng suất và bội thu năng suất*

- Đối với vườn hồ tiêu giai đoạn kiến thiết

Đối với cây trồng thì năng suất là yếu tố quan trọng nhất của các nông hộ, để tăng năng suất hồ tiêu thì đó là sự kết hợp của rất nhiều yếu tố. Trong đó tác động mạnh nhất là tổng cành mang quả, số gié trên cành, chiều dài trung bình gié, tỷ lệ rụng gié, dung trọng hạt... Để đánh giá hiệu lực của phân bón POLYFA TN3 đến các yếu tố cấu thành năng suất trên hồ tiêu KTCB trong khu vực thực nghiệm đã tiến hành theo dõi và thống kê một số chỉ tiêu liên quan sau. Qua kết quả thống kê thì tổng cành trên cùng một đơn vị diện tích (250 cm²) không có sự khác nhau đáng kể. Tuy nhiên số gié trên cành cơ bản giữa các công thức thí nghiệm có sự chênh lệch lớn 14,4/12,4 gié trên cành và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Điều đó cho thấy, khi sử dụng phân bón POLYFA TN3 đã làm giảm tỷ lệ rụng gié là cơ sở để tăng năng suất hồ tiêu.

Chiều dài trung bình mỗi gié và số quả/gié là yếu tố trực tiếp để xem xét về tỷ lệ đậu quả và năng suất của hồ tiêu kinh doanh, đồng thời tạo cảm giác cảm quan khi quan sát bằng mắt. Đây cũng là yếu tố để xem xét đến sự cân đối về dinh dưỡng cho cây tiêu cũng như mức độ ảnh hưởng của sâu bệnh đến năng suất hồ tiêu.

Chiều dài gié trung bình ở 2 công thức có sự chênh lệch nhau lớn và khác biệt đáng kể 8,3/7,1 cm. Chiều dài gié tăng hơn Đ/C 1,0 cm đem lại cảm quan tốt hơn cho người sản xuất. Niên vụ hồ tiêu 2018-2019 do giá bán thấp nên người nông dân đã giảm bón phân, chăm sóc làm số gié/cành, chiều dài gié và số quả/gié thấp hơn đáng kể so với các năm trước.

Số lượng quả trung bình trên mỗi gié cũng có sự sai khác biệt đáng kể (42,5/35,7 quả trên 1 gié) và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Như vậy, khi sử dụng phân bón

POLYFA TN3 trên hồ tiêu kiến thiết cơ bản với lượng 2,0kg/gốc đã đạt chiều dài gié cao nhất và số lượng quả/gié nhiều nhất.

Sau thời gian sử dụng phân bón POLYFA TN3 đã tiến hành thu hoạch và tính toán năng suất thực thu đại diện cho 2 công thức năng suất tươi và khô của các công thức có sự khác biệt đáng kể; sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Khi sử dụng POLYFA TN3 đã tăng năng suất hồ tiêu 7 - 9% so với đối chứng

- Đối với vườn hồ tiêu lâu năm:

Đối với vườn hồ tiêu KD, phân bón POLYFA TN3 đã tăng số cành/cây (thông qua số cành/khung) và số gié/cành ở mức có ý nghĩa thống kê. Vườn hồ tiêu giai đoạn kinh doanh thường có số cành và số lượng mắt lá (nơi xuất hiện gié tiêu) cao hơn giai đoạn KTCB. Chiều dài gié và số quả/gié vườn KD thấp hơn vườn KTCB. Điều này có thể giải thích, trong niên vụ 2018-2019 nông dân giảm chăm sóc cho vườn hồ tiêu nên càng làm giảm yếu tố cấu thành năng suất. Tuy nhiên công thức bón phân POLYFA –TN3 đã cải thiện đáng kể chiều dài gié (7,8/6,6 cm) và số quả trên gié (37,2/30,4 quả trên 1 gié). Công thức có bón chế phẩm POLYFA TN3 đã giảm tỷ lệ hạt lép (5,9/6,6%) và tăng dung trọng hạt (530,7/500,2 gam/lit). Năng suất tươi và năng suất khô đã tăng đáng kể khi sử dụng phân bón POLYFA TN3, tăng 19 - 20% so với Đ/C và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Năng suất khoảng 3,5 kg/trụ tương ứng với 5.320 kg/ha.

c) *Hiệu quả kinh tế của chế phẩm khảo nghiệm*

Sơ bộ đánh giá hiệu quả kinh tế khi bón chế phẩm POLYFA TN3 chỉ đánh giá cho vườn hồ tiêu KD; vườn KTCB đang trong giai đoạn hoàn thiện chiều cao, bộ tán lá nên năng suất hạt (quả hồ tiêu) chưa phản ánh được giá trị của cả vườn.

Tính lãi suất cho hồ tiêu năm 2019 rất khó vì giá bán hồ tiêu quá thấp, thấp hơn giá thành nên rất khó tính toán và phân tích lợi nhuận. Giá hồ tiêu thời kỳ cao nhất đạt mức 180.000 - 200.000 đ/kg (năm 2014) nhưng sau đó giảm rất nhanh: giá bán năm 2018 là 60.000 đ/kg (người sản xuất đã thấy lỗ, hạn chế đầu tư) và giá bán năm 2019 là 32.000 - 34.000 đ/kg (khi đó công thu hoạch đã chiếm 2/3 giá bán).

Tỷ suất lợi nhuận thấp do giá bán hồ tiêu quá thấp. Trong các năm 2017, 2018 và 2019 người sản xuất hồ tiêu đều lỗ. Đây là quy luật tất yếu do cung vượt cầu và thị trường tiêu thụ đã ổn định.

e) *Đánh giá tính chất đất được cải thiện, khả năng làm tăng miễn dịch cây trồng đối với chế phẩm có chất cải tạo đất, phân bón có tác dụng làm tăng miễn dịch cho cây trồng*

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm đến một số đặc tính hóa học của đất như sau: pH_{KCl} của các công thức biến động không đáng kể, bón chế phẩm POLYFA TN3 có tăng nhẹ pH nhưng không lớn; hàm lượng hữu cơ trong đất sau thí nghiệm ở mức khá, riêng thí nghiệm tăng nhẹ (3,46/3,27% và 3,80/3,65%); hàm lượng N tổng số, P tổng số và K tổng số biến động không đáng kể. Chế phẩm POLYFA TN3 với lượng 2,0 kg/gốc (tương ứng với 3.200 kg/ha) có tác dụng cải tạo pH và chuyển hoá hữu cơ trong đất nhưng sau 1 năm chưa lớn. Hàm lượng đạm tổng số, lân tổng số, kali tổng số chỉ tăng nhẹ ở thí nghiệm. Hàm lượng lân dễ tiêu được cải thiện đáng kể ở các công thức bón chế phẩm POLYFA TN3 (8,40/5,90 và 6,65/5,75 mg/100g đất).

Bón chế phẩm POLYFA TN3 với lượng 2kg/gốc(trụ) (tương đương 3,2 tấn /ha) đã góp phần cải tạo các đặc tính hoá học của đất theo hướng tốt hơn. Sau 1 niên vụ hàm lượng các nguyên tố khoáng trong đất không giảm. Như vậy, phân bón POLYFA TN3 trên nền phân vô cơ 360 kgN + 180 kg P + 360 kg K đã đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng của hồ tiêu KTCB và KD.

3.4.3.3. *Quy trình và hướng dẫn sử dụng*

Kết quả khảo nghiệm diện rộng trên cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên cho thấy:

+ Bón chế phẩm POLYFA TN3 cho cà phê với lâu năm và cà phê tái canh với lượng 2,5 kg/gốc (tương ứng 2,8 tấn/ha) đã có tác dụng:

1) Tăng khả năng sinh trưởng của cây thể hiện tăng số lượng cành thứ cấp, chiều dài cành và đường kính cành;

2) Tăng các yếu tố cấu thành năng suất, giảm tỷ lệ rụng quả, tăng năng suất 27% đối với cà phê lâu năm và 17,7% đối với cà phê tái canh;

3) Hạn chế hầu hết các bệnh nguy hiểm cho cây như bệnh vàng lá, rệp sáp còn 25% so với đối chứng;

4) Tăng số lượng các VSV có lợi trong đất như *Trichoderma*, *Azotobacter* lên 100 lần so với đối chứng; giảm số lượng các VSV gây hại như *Fusarium*, *Pratylenchus*, *Meloidogyne* còn không đáng kể không gây hại cho cây;

5) Cải thiện kết cấu đất: tăng hàm lượng limon, tăng độ xốp, tăng hàm lượng đạm, lân dễ tiêu và kali dễ tiêu trong đất;

6) Tỷ suất lợi nhuận sau khi sử dụng chế phẩm POLYFA TN31 năm là 7,33 đối với cà phê lâu năm và 2,35 đối với cà phê tái canh.

+ Bón chế phẩm POLYFA TN3 với lượng 2 kg/cây tương đương với 3.200 kg/ha trên diện rộng cho vườn hồ tiêu đã:

- Cải thiện các đặc tính hoá học đất: cải thiện pH, tăng lượng đạm tổng số, lân dễ tiêu và kali dễ tiêu và các yếu tố lý tính đất theo hướng tốt hơn;
- Tăng khả năng sinh trưởng thông qua số cành cơ bản và cành thứ cấp;
- Cải thiện các yếu tố cấu thành năng suất: số gié/cành, chiều dài gié, số quả (hạt)/gié và nâng cao năng suất từ 3,39 kg/trụ thành 4,05 kg/trụ tương đương với 950 kg/ha;
- Giảm thấp sinh vật gây hại cho rễ, giảm tỷ lệ bệnh chết nhanh và chết chậm cho vườn hồ tiêu;
- Tăng hiệu quả kinh tế thông qua lãi suất và tỷ suất lợi nhuận nhưng không lớn do giá bán hồ tiêu năm 2019 quá thấp.

Hướng dẫn sử dụng chế phẩm

Từ kết quả khảo nghiệm trên cây cà phê và hồ tiêu, đề xuất hướng dẫn sử dụng chế phẩm như sau:

Đối với cà phê lâu năm (từ 20 năm tuổi trở lên)

Chế phẩm POLYFA TN3: 2,5 -3,0 tấn/ha POLYFA TN3 kết hợp với phân vô cơ NPK 16:8:16 với lượng 2,0 tấn/ha hoặc phân vô cơ đơn chất tương đương với lượng NPK trên; chia làm 4 lần/năm:

- Lần 1 (khi tưới lần 2 – khoảng tháng 1 hoặc tháng 2): 150 kg NPK; rắc phân NPK-tưới đủ tan hết phân, khoảng 600 l/gốc.

- Lần 2: tháng 5 (khi mưa đã ổn định-sau cơn mưa thứ 2): 1,4-1,9 tấn/ha POLYFA TN3 kết hợp 800 kg NPK/ha; vét bồn nhẹ theo mép tán lá-rắc phân đều-lấp kín phân.

- Lần 3: tháng 7 (giữa mùa mưa): 1,1 tấn/ha POLYFA TN3 kết hợp 650 kg NPK/ha; vét bồn nhẹ theo mép tán lá-rắc phân-lấp kín phân.

- Lần 4: tháng 9 (giữa cuối mùa mưa): phân NPK 500 kg/ha; vét bồn nhẹ, bón theo mép tán lá, lấp kín phân.

Đối với cà phê tái canh

Sau rắc vôi với 800 kg/ha; bón lót 1,0 kg POLYFA TN3/hố tương ứng với 1,1 tấn/ha;

Các năm sau (năm 1 đến năm 4):

- Lần 1 (khi tưới lần 2 – khoảng tháng 1 hoặc tháng 2): 100 kg NPK; rắc phân NPK-tưới đủ tan hết phân, khoảng 600 l/gốc.

- Lần 2: tháng 5 (khi mưa đã ổn định-sau cơn mưa thứ 2): 1,4-1,9 tấn/ha POLYFA TN3 kết hợp 500 kg NPK/ha; vét bồn nhẹ theo mép tán lá-rắc phân đều-lấp kín phân.

- Lần 3: tháng 7 (giữa mùa mưa): 1,1 tấn/ha POLYFA TN3 kết hợp 300 kg NPK/ha; vét bồn nhẹ theo mép tán lá-rắc phân-lấp kín phân.

- Lần 4: tháng 9 (giữa cuối mùa mưa): phân NPK 300 kg/ha; vét bồn nhẹ, bón theo mép tán lá, lấp kín phân.

Đối với vườn hồ tiêu kinh doanh

Chế phẩm POLYFA TN3: 3-3,5 tấn/ha POLYFA TN3 kết hợp với phân vô cơ NPK 16:8:16 (phân phối trộn) 2,25 tấn/ha hoặc phân vô cơ đơn chất tương đương với 360 kg N: 180 kg P₂O₅: 360 kg K₂O; chia làm 4 lần/năm:

Lần 1 (khi tưới lần 2 – khoảng tháng 1 hoặc tháng 2): 0,55 tấn/ha NPK - rắc phân tưới đủ tan hết phân;

Lần 2 (khi mưa đã ổn định-sau cơn mưa thứ 2): 1,5 - 2 tấn/ha POLYFA TN3 kết hợp 1 tấn NPK/ha; vét bồn nhẹ theo mép tán lá-rắc phân đều-lấp kín phân;

Lần 3 (giữa mùa mưa): 1 tấn/ha POLYFA TN3 kết hợp 300 kg NPK/ha; vét bồn nhẹ theo mép tán lá-rắc phân-lấp kín phân.

Lần 4 (giữa cuối mùa mưa - tháng 9): phân NPK 400 kg/ha; vét bồn nhẹ, bón theo mép tán lá.

Đối với vườn hồ tiêu KTCB:

Chế phẩm POLYFA TN3: 3-3,5 tấn/ha POLYFA TN3 kết hợp với phân vô cơ NPK 16:8:16 (phân phối trộn) 1,350 tấn/ha, hoặc phân vô cơ đơn chất tương đương với tương đương với 300 kgN: 150 kg P₂O₅: 300 kg K₂O; chia làm 4 lần/năm:

Lần 1 (khi tưới lần 2 – khoảng tháng 1 hoặc tháng 2): 0,35 tấn/ha NPK - rắc phân tưới đủ tan hết phân;

Lần 2 (khi mưa đã ổn định-sau cơn mưa thứ 2): 1,5 - 2 tấn/ha POLYFA TN3 kết hợp 0,6 tấn/ha NPK/ha; vét bồn nhẹ theo mép tán lá-rắc phân đều-lấp kín phân;

Lần 3 (giữa mùa mưa): 0,2 tấn/ha POLYFA TN3 kết hợp 300 kg NPK/ha; vét bồn nhẹ theo mép tán lá-rắc phân-lấp kín phân.

Lần 4 (giữa cuối mùa mưa - tháng 9): phân NPK 0,2 tấn/ha; vét bồn nhẹ, bón theo mép tán lá.

3.5. HOÀN THIỆN CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT PHÂN BÓN NHẢ CHẬM SỬ DỤNG CHO CÂY CÀ PHÊ

3.5.1. Tình trạng kỹ thuật của chế phẩm trước hoàn thiện

Ở giai đoạn 2011-2015, đề tài TN3/C04 (chương trình Tây Nguyên 3) đã nghiên cứu quy trình công nghệ sản xuất phân bón nhả chậm bằng một loại vật liệu có thể mang phân urea và NPK được điều chế dựa trên phản ứng tạo ure-formaldehyt từ urea và formalin. Đề tài đã hoàn hành quy trình sản xuất quy mô phòng thí nghiệm các loại phân urea và NPK nhả chậm cho cây cà phê với các công thức NPK 15-18-18, 20-0-18.

Để nâng cấp quy mô công nghệ cho chế phẩm phân bón NPK nhả chậm ứng dụng cho cây cà phê cần thiết tiến hành: (1) Hoàn thiện quy trình công nghệ sản xuất loại phân bón này ở quy mô pilot với các công thức chuyên biệt sử dụng cho cây cà phê. (2) Hoàn thiện quy trình sử dụng và tiến hành nghiên cứu khảo nghiệm cho chế phẩm.

3.5.2. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất chế phẩm, nâng cấp từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô pilot

Nghiên cứu triển khai ở quy mô pilot là giai đoạn thứ hai trong nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất sản phẩm mới, trước nghiên cứu tổng hợp ở quy mô công nghiệp. Nhiệm vụ chính của giai đoạn này là giải quyết các vấn đề kỹ thuật khi “to hóa” quy trình và tối ưu hóa các điều kiện thí nghiệm. Đặc biệt lưu ý đến các vấn đề nảy sinh khi mở rộng quy mô thí nghiệm như chọn nguyên liệu, quy trình vận hành thiết bị, chất lượng sản phẩm... để bổ sung những chi tiết kỹ thuật không thấy được ở quy mô phòng thí nghiệm.

Các vấn đề cần giải quyết tập trung vào:

Quy trình sản xuất: Sản xuất được 2 loại phân NPK 20.0.18 và 15.18.18 và ure nhả chậm ở quy mô pilot (200kg/m³) trên cơ sở cấu trúc được tạo bởi màng bao tinh bột biến tính formalin và ure-formaldehyt. Các loại phân nhả chậm trên có thể phóng thích khoáng

N, P và K trong thời gian 3 tháng nên có thể cung cấp dinh dưỡng cho cây trong thời gian nuôi cây với phân NPK 15.18.18 và trong thời gian nuôi quả NPK 20.0.18.

Hiệu quả kinh tế: sử dụng chế phẩm giúp tăng năng suất và chất lượng sản phẩm từ đó giúp tăng lợi nhuận so với các sản phẩm phân bón đơn, phân bón thông thường. Giảm chi phí đầu tư cho vườn cà phê, tăng hiệu quả kinh tế cho người trồng cà phê.

Chất lượng sản phẩm: sản phẩm có chất lượng ổn định (hàm lượng dinh dưỡng N,P,K đảm bảo đúng chất lượng với độ sai lệch $\pm 3\%$ so với công thức), có khả năng tồn trữ lâu dài. Chế phẩm có khả năng phóng thích dinh dưỡng đều vào trong đất góp phần cung cấp dinh dưỡng đều cho cây cà phê sinh trưởng và phát triển.

3.5.2.1. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất phân bón NPK 15.15.18 nhà chậm quy mô pilot (200 kg/m²)

Gồm các bước sau:

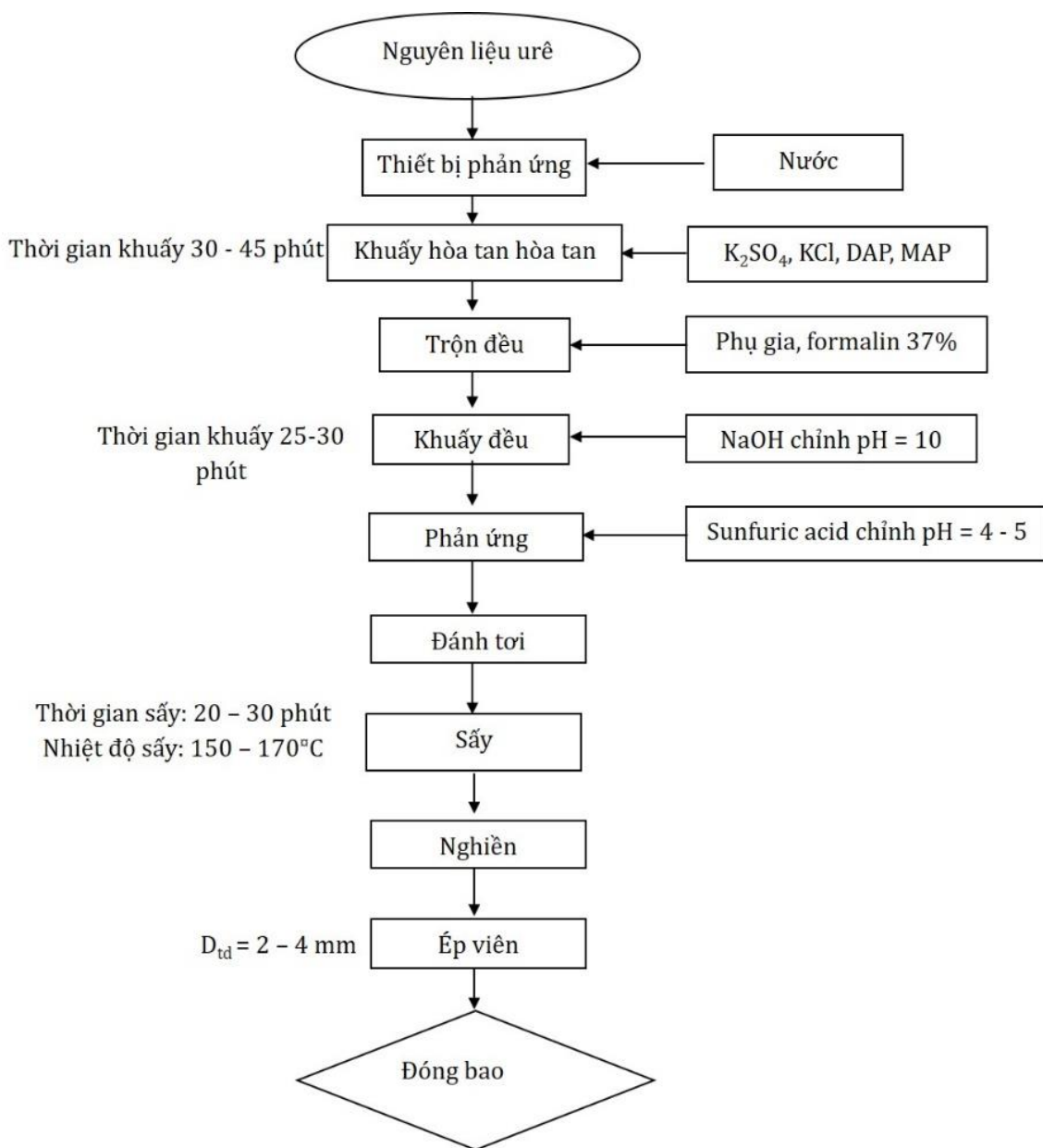
a. Chọn nguyên liệu:

Các loại nguyên liệu chủ yếu là các loại phân bón đơn hoặc các loại muối sử dụng làm phân bón có sẵn trên thị trường bảng 3.4.1.

Bảng 3.4.1. Nguyên liệu dùng sản xuất phân bón NPK 15.18.18 nhà chậm

STT	Tên nguyên liệu	Xuất xứ	ĐVT	Chất lượng nguyên liệu
1	Urê nguyên liệu	Việt Nam	kg	46% KL
2	Kali clorua	Israel	Kg	60 % KL
3	Kali sunfate	Israel	Kg	51% KL
4	Diamoniphotphat	Việt Nam	kg	18% N; 46% P ₂ O ₅
5	Amoni photphat	Việt Nam	kg	12 % N; 50% P ₂ O ₅
6	Dolomite	Việt Nam	Kg	-
7	Formalin	Việt Nam	kg	37 % KL
8	Sunfuric acid	Việt Nam	kg	50%. KL
9	Xút (NaOH)	Việt Nam	kg	50% KL

b. Hoàn thiện quy trình vận hành thiết bị quy mô pilot theo quy trình sản xuất phân NPK 15.18.18 nhà chậm



Hình 3.4.1. Quy trình sản xuất phân bón NPK 15.18.18 nhả chậm

c. Kết quả hoàn thiện quy trình thực hiện

Bước 1: Kiểm tra bồn phản ứng trước khi nạp liệu.

Bước 2: Đóng các van xả của thiết bị, bơm nước với lượng vừa đủ tùy theo mẻ phản ứng, mở motor khuấy và sau đó nạp lượng urê theo công thức đã tính sẵn.

Bước 3: Bổ sung lượng KCl, K₂SO₄, DAP, MAP và các thành phần vi lượng cần thiết theo bảng tính toán nhằm đảm bảo sản phẩm đạt theo chỉ tiêu hàm lượng thành phần dinh dưỡng của phân bón. Sau khi bổ sung lượng nguyên liệu trên cần tiếp tục khuấy nhằm đảm bảo các nguyên liệu được phân tán đều trong dung dịch. Thời gian khuấy trung bình

từ 30 – 45 phút tùy loại nguyên liệu đưa vào trong công thức.

Bước 4: Bơm lượng formalin 37% theo lượng đã tính toán trước đó. Tiếp tục khuấy hỗn hợp phản ứng trong khoảng thời gian 25 – 30 phút.

Bước 5: Tạo mầm phản ứng – Tạo mầm phản ứng bằng cách điều chỉnh pH của dung dịch từ 6.5 – 7 lên pH = 10.

Bước 6: Thực hiện phản ứng bằng cách điều chỉnh pH của hỗn hợp về khoảng từ 3 – 4. Hiện tượng phản ứng diễn ra rõ ràng có thể nhận biết từ đó người thực hiện có thể điều chỉnh quá trình để đảm bảo sản phẩm hình thành và được đưa ra qua công đoạn phù hợp nhằm tránh gián đoạn quá trình sản xuất. Khi pH dung dịch được chỉnh bằng dung dịch axit sunfuric 45 – 50 % đến pH hỗn hợp từ 3 – 4 thì sẽ xuất hiện hiện tượng hỗn hợp phản ứng tạo thành dung dịch màu trắng sữa và có độ nhớt tăng dần cho đến khi đóng rắn. Vì vậy sản phẩm cần được tháo ra máng chứa sản phẩm đúng lúc nhằm tránh hiện tượng sản phẩm bị đóng rắn trong thiết bị.

Bước 7: Đánh toi sản phẩm - Sản phẩm sau khi tháo ra máng chứa tiếp tục phản ứng trong khoảng thời gian 10 – 60 phút. Khi sản phẩm đóng hoàn toàn dùng các thiết bị, dụng cụ phù hợp tách thành các mảng vừa đủ để đưa vào thiết bị đánh toi sản phẩm thành dạng bột với kích thước phù hợp trước khi vào máy sấy.

Bước 8: Sấy sản phẩm – Sản phẩm sau khi đánh toi được đưa từ vào thiết bị sấy bằng băng tải. Độ ẩm của sản phẩm trước khi sấy trung bình từ 35 – 50% tùy sản phẩm và độ ẩm sản phẩm sau sấy đảm bảo trung bình từ 3 – 8%. Nhiệt độ quá trình sấy không được vượt quá 175°C. Nhiệt độ quá cao sản phẩm có thể bị nóng chảy và kết khối gây khó khăn cho các quá trình tiếp theo cũng như ảnh hưởng đến chất lượng và khả năng sử dụng của sản phẩm. Độ ẩm sản phẩm cần đạt theo tiêu chuẩn nhằm giảm hiện tượng vón cục, đóng bánh của sản phẩm trong quá trình bảo quản, lưu trữ.

Bước 9: Nghiền sản phẩm - Sản phẩm sau sấy có thể hình thành các mảng rắn, hạt rắn có độ cứng cao vì vậy sản phẩm sau khi sấy cần được nghiền mịn nhằm đảm bảo độ mịn phù hợp trước khi vào máy ép tạo hạt đồng thời tăng tính đồng nhất của sản phẩm.

Bước 10: Ép viên - Sản phẩm sau nghiền được đưa vào thiết bị ép viên. Sản phẩm sau ép có kích thước hạt với $d_{td} = 2 - 3$ mm và được đưa trực tiếp vào tag chứa chuẩn bị cho quá trình đóng gói.

Bước 11: Đóng gói sản phẩm - Sản phẩm từ tag chứa được xả xuống bao chứa có bàn cân định lượng có thể điều chỉnh 10 kg, 25 kg, 30 kg, 50 kg. Sản phẩm sau khi đủ khối lượng được băng tải đưa qua máy may bao khâu lại vào đưa ra ngoài. Sản phẩm đưa ra được chứa trên các pallet, mỗi pallet trung bình 2 tấn sản phẩm. Sau đó được đưa vào lưu trữ ở kho chứa.

3.5.2.2. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất phân bón NPK 20.0.18 nhà chậm quy mô pilot (200 kg/mẻ)

Gồm các bước:

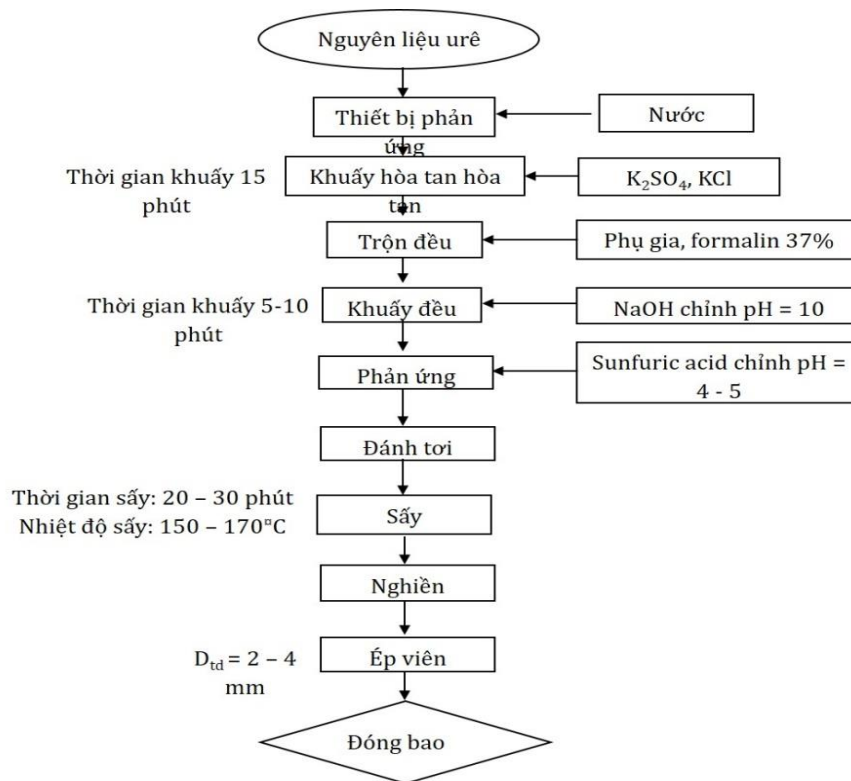
a. Chọn nguyên liệu

Các loại nguyên liệu chủ yếu là các loại phân bón đơn hoặc các loại muối sử dụng làm phân bón có sẵn trên thị trường (bảng 3.4.3):

Bảng 3.4.2. Nguyên liệu dùng sản xuất phân bón NPK20.0.18 nhà chậm

STT	Tên nguyên liệu	Xuất xứ	ĐVT	Chất lượng nguyên liệu
1	Urê nguyên liệu	Việt Nam	kg	46% KL
2	Kali clorua	Israel	Kg	60 % KL
3	Kali sunfate	Israel	Kg	51% KL
4	Formalin	Việt Nam	kg	37 % KL
5	Sunfuric acid	Việt Nam	kg	50%. KL
6	Xút (NaOH)	Việt Nam	kg	50% KL

b. Hoàn thiện quy trình vận hành thiết bị quy mô pilot theo quy trình sản xuất phân ure nhà chậm



Hình 3.4.2. Quy trình sản xuất phân bón nhả chậm NPK 20.0.18

c. Kết quả hoàn thiện quy trình thực hiện

Bước 1: Kiểm tra vệ sinh thiết bị phản ứng trước khi nạp liệu và vận hành thiết bị

Bước 2: Nạp Kali clorua với lượng tương ứng theo công thức

Bước 3: Nạp tác nhân phản ứng formalin với tỷ lệ phù hợp. Tùy theo nhu cầu thời gian nhả chậm của phân bón mà lượng formalin bổ sung theo các tỷ lệ tương ứng. Các nguyên liệu được khuấy đều cho đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất tạo điều kiện cho phản ứng xảy ra hoàn toàn.

Bước 4: Điều chỉnh pH = 9 – 10 bằng dung dịch NaOH. Tạo mầm cho phản ứng xảy ra và khuấy đều trong khoảng 15 phút.

Bước 5: Điều chỉnh pH = 4 -5 nhằm thúc đẩy phản ứng xảy ra.

Bước 6: Sản phẩm sau phản ứng ở dạng rắn, cần đánh tơi nhằm thuận lợi cho quá trình sấy đảm bảo độ ẩm trước khi ép viên tạo hình sản phẩm.

Bước 7: Sấy – Nhiệt độ quá trình sấy 150 – 175°C và thời gian lưu trong thiết bị sấy có dòng khí đối lưu trung bình khoảng 20 – 30 phút tùy sản phẩm. Độ ẩm sau sấy cần phải đạt yêu cầu trong khoảng 7 - 10% nhằm đảm bảo quá trình ép viên.

Bước 8: Tạo hình (tạo hạt) phân bón - Sản phẩm sau sấy được chuyển sang thiết bị ép viên trực đứng. Đường kính hạt phân trung 2mm chiều dài hạt phân trung bình từ 2 – 3.5 mm. Sản phẩm sau ép viên có nhiệt độ trung bình khoảng 60 – 80 °C vì vậy cần làm nguội trước khi đóng gói nhằm đảm bảo phân bón không bị tái hút ẩm và thủng, rách bao bì.

Bước 9: Đóng gói nhằm kéo dài thời gian bảo quản sản phẩm, thuận lợi cho quá trình vận chuyển cũng như tạo sản phẩm với mẫu mã phù hợp.

3.5.2.3. Xây dựng các chỉ tiêu đánh giá chất lượng chế phẩm

Các chỉ tiêu chất lượng được đánh giá bao gồm: độ ẩm, độ cứng sản hạt phân bón, giới hạn nhiệt độ tồn dư

(1). Đánh giá giới hạn độ ẩm tồn trữ

Phân bón NPK 15.18.18

Kết quả kiểm tra đánh giá cho thấy, sản phẩm khi tồn trữ tại các độ ẩm 1, 3, 5, 8% tại nhiệt độ môi trường (từ 25 – 40°C) và lực chịu nén tương ứng 1000 kg/cm² theo thời gian cho thấy phân bón nhà chậm khi tồn trữ tại các độ ẩm từ 8% trở xuống có thời gian tồn trữ cao trên 12 tháng.

Kết quả kiểm tra thời gian tồn trữ của phân bón NPK nhà chậm với công thức 20.0.18 cho thấy với độ ẩm ≤ 8% với điều kiện nhiệt độ môi trường trung bình từ 25 - 40°C, độ sếp chông 20 bao/cây (mỗi bao 50 kg) cho thấy phân bón nhà chậm có khả năng không bị vón cục trong thời gian trên 18 tháng. Điều này góp phần thuận lợi cho quá trình lưu kho khi sản phẩm được chứa với lượng lớn hơn sẽ góp phần hạn chế việc phân bón bị vón cục, tạo điều kiện thuận lợi cho người sử dụng.

Bảng 3.4.4. Kết quả đánh giá giới hạn độ ẩm tồn trữ của phân bón NPK 15.18.18

<i>Thời gian</i> <i>Độ ẩm (%)</i>	<i>1 tháng</i>	<i>3 tháng</i>	<i>6 tháng</i>	<i>9 tháng</i>	<i>12 tháng</i>	<i>15 tháng</i>	<i>18 tháng</i>
<i>1</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>I</i>
<i>3</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>I</i>	<i>I</i>
<i>5</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>I</i>	<i>I</i>
<i>8</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>E</i>

Chú thích: K: không bị vón cục (bị kết khối trong quá trình tồn trữ). I: Bị vón cục ít (Bị kết dính thành khối nhưng dễ dàng đánh toi). E: Bị vón cục (bị kết khối và khó đánh toi).

Phân bón NPK 20.0.18

Việc đánh giá giới hạn độ ẩm tồn trữ rất quan trọng trong việc sản xuất, tồn trữ phân bón vì khi độ ẩm trong phân bón cao việc hình thành các tinh thể muối của phân bón liên kết với nhau tạo thành khối rắn, khối rắn càng lớn khi độ ẩm trong phân bón càng cao.

Bảng 3.4.4. Kết quả đánh giá giới hạn độ ẩm tồn trữ của phân bón NPK 20.0.18

<i>Thời gian</i> <i>Độ ẩm (%)</i>	<i>1 tháng</i>	<i>3 tháng</i>	<i>6 tháng</i>	<i>9 tháng</i>	<i>12 tháng</i>	<i>15 tháng</i>	<i>18 tháng</i>
<i>1</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>
<i>3</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>k</i>	<i>K</i>
<i>5</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>k</i>	<i>I</i>
<i>8</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>I</i>	<i>I</i>

Chú thích: K: không bị vón cục (bị kết khối trong quá trình tồn trữ). I: Bị vón cục ít (Bị kết dính thành khối nhưng dễ dàng đánh toi). E: Bị vón cục (bị kết khối và khó đánh toi).

Khi khối rắn càng lớn và việc đánh toi khó khăn sẽ ảnh hưởng lớn đến việc sử dụng mặt dù không làm suy giảm các thành phần dinh dưỡng trong phân bón. Vì vậy lượng ẩm trong phân bón cần được kiểm soát và đánh giá cụ thể với các công thức khác nhau cùng đó là thời gian tồn trữ, nhiệt độ tồn trữ, độ chịu nén tồn trữ nhằm đảm bảo chất lượng sản phẩm, và tính linh động trong việc sử dụng phân bón NPK nói chung và phân bón NPK nhà chậm nói riêng cũng như các loại phân bón vô cơ khác

Phân bón Ure nhà chậm

Bảng 3.4.5. Kết quả đánh giá giới hạn độ ẩm tồn trữ của phân bón NPK 20.0.18

<i>Thời gian</i> <i>Độ ẩm (%)</i>	<i>1 tháng</i>	<i>3 tháng</i>	<i>6 tháng</i>	<i>9 tháng</i>	<i>12 tháng</i>	<i>15 tháng</i>	<i>18 tháng</i>
<i>1</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>
<i>3</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>k</i>	<i>K</i>
<i>5</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>
<i>8</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>K</i>	<i>I</i>

Chú thích: K: không bị vón cục (bị kết khối trong quá trình tồn trữ). I: Bị vón cục ít (Bị kết dính thành khối nhưng dễ dàng đánh toi).

Kết quả kiểm tra cho thấy phân Ure nhà chậm có khả năng chịu được độ ẩm tương đối cao mà không bị đóng vón cục trong điều kiện bảo quản tại nhiệt độ 25 - 40°C và độ

sếp chồng 25 bao/cây (40kg/bao). Phân urê nhả chậm có hàm lượng đạm từ 30 – 32% và việc sau khi tạo thành sản phẩm giảm khả năng hút ẩm đáng kể cũng như khả năng tự tách rời sản phẩm khá tốt vì vậy sản phẩm hầu như không bị vón cục.

(2). Đánh giá khả năng hút ẩm

Việc đánh giá khả năng hút ẩm trở lại sản phẩm được xác định theo quy trình của TCVN 9297-2012 về phương pháp xác định hàm lượng ẩm của phân bón.

Kết quả kiểm tra đánh giá độ ẩm theo từng thời điểm lấy mẫu của các loại phân bón và được kiểm tra đánh giá theo TCVN 5815:2001. Kết quả cho thấy phân bón rất ít bị hút ẩm do phần lớn hàm lượng đạm ure trong công thức phần lớn bị polimer hóa bởi formandehyde. Các phân tử polimer bao bọc xung quanh hạt phân bón trên bề mặt cũng như hình thành cấu trúc không gian làm hạn chế tiếp xúc giữa các phân tử muối trong phân bón từ đó ngăn cản quá trình hút ẩm vào trong hạt phân bón.

Bảng 3.4.6. Đánh giá khả năng hút ẩm của một số loại phân bón nhả chậm

<i>Thời điểm</i> <i>Công thức</i>	<i>0h</i>	<i>6h</i>	<i>12h</i>	<i>24h</i>	<i>36h</i>	<i>48h</i>	<i>60h</i>	<i>72h</i>
<i>Urê nhả chậm</i>	<i>0.42</i>	<i>0.58</i>	<i>0.61</i>	<i>0.68</i>	<i>0.70</i>	<i>0.73</i>	<i>0.75</i>	<i>0.78</i>
<i>NPK 15.18.18 NC</i>	<i>0.83</i>	<i>0.91</i>	<i>0.98</i>	<i>1.12</i>	<i>1.16</i>	<i>1.18</i>	<i>1.21</i>	<i>1.28</i>
<i>NPK 20.0.18 NC</i>	<i>0.64</i>	<i>0.76</i>	<i>0.81</i>	<i>0.84</i>	<i>0.87</i>	<i>0.94</i>	<i>1.04</i>	<i>1.02</i>

Việc đánh giá khả năng hút ẩm của phân bón rất quan trọng trong phân bón vô cơ vì đối với các loại phân có thành phần đạm và kali cao rất dễ bị hút ẩm làm phân bón bị tan chảy 1 phần từ đó hình thành tinh thể và phát triển thành khối lớn làm cho phân bón khó sử dụng khi đến tay người tiêu dùng

(3). Đánh giá giới hạn độ cứng của hạt phân bón, độ cao xếp chồng của phân bón chứa trong bao, trong thùng chứa.

Đánh giá độ bền tĩnh (độ cứng) của hạt

Độ cứng của hạt phân bón phụ thuộc vào hình dạng hạt phân bón, kỹ thuật tạo hình, thành phần nguyên liệu của phân bón, độ ẩm hạt phân... Độ cứng hạt phân bón lớn góp phần đảm bảo tính lưu trữ sản phẩm được lâu hơn, vận chuyển dễ dàng, sử dụng dễ

dàng cũng như giảm thất thoát phân bón ra môi trường và sự kết khối của phân bón trong quá trình lưu trữ.

Đánh giá độ cao xếp chồng của chồng phân bón chứa trong bao

Theo Yara “storage fertilizer” độ cao xếp chồng của phân bón tối đa không được quá 3 pellet, mỗi pellet không quá 15 bao (khối lượng 50kg).

Trong sản xuất thực tế và bảo quản tùy thuộc vào loại phân bón, công thức phân bón thì việc xếp chồng có thể cho phép giới hạn từ 5 – 20 bao/cây (bao 50kg).

Tuy nhiên hạt phân bón có độ cứng quá cao làm cho các hạt phân bón chậm tan và cung cấp dinh dưỡng không kịp thời cho cây trồng theo tập quán canh tác hiện nay của người làm nông.

(4). Đánh giá giới hạn nhiệt độ tồn trữ của sản phẩm.

Theo quy định của bộ nông nghiệp và phát triển nông thôn phân bón nên được bảo quản ở những nơi khô thoáng, có độ ẩm thấp, nhiệt độ bảo quản từ 5-30 °C. Ngoài ra với một số loại phân bón nhạy nhiệt phải bảo quản theo nhiệt độ quy định.

Từ các tiêu chí về độ ẩm, nhiệt độ, độ bền hạt trong bảo quản ta đưa ra được phương pháp bảo quản phù hợp với các tiêu chí bảo quản của phân bón nhà chậm:

3.5.2.4. Nghiên cứu thiết lập điều kiện bảo quản

Kết quả đã xác định được điều kiện bảo quản phân bón nhà chậm:

- Nhiệt độ: 5-35 °C, tránh để trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời.
- Độ ẩm: nơi khô thoáng, tránh độ ẩm cao, độ ẩm môi trường không vượt quá 70%, độ ẩm sản phẩm không vượt quá 0.6-1.5 % khối lượng.
- Độ cao xếp chồng bao: không nhiều hơn 3 pellet, mỗi pellet tối đa là 15 bao (mỗi bao khối lượng 50kg). Nên chất các chồng phân theo hình bậc thang.
- Tránh những nơi có nguồn nhiệt dễ gây cháy nổ, cũng như không để gần các vật liệu dễ cháy nổ, dễ bắt lửa.
- Tách rời các loại phân ra, không để lẫn vào nhau, không để phân Ure gần phân Amonium Nitrate.

Đối với những nơi sản xuất, dự trữ phân bón nhiều nên tuân theo nguyên tắc:

- Nơi bảo quản được xây dựng bằng các loại vật liệu cách nhiệt, phòng cháy nổ.
- Nên xây dựng hệ thống thông gió giúp tản nhiệt, mùi, khí thoát ra từ phân bón.
- Không đặt phân bón trực tiếp lên sàn nhà, nếu đặt lên sàn phải có các pellet có lỗ thoáng khí bên dưới để đảm bảo sản phẩm luôn khô ráo không bị hút ẩm.
- Bề mặt sàn bằng phẳng, khô ráo, nên có thêm các pellet bằng gỗ, có lỗ thoáng khí khi sử dụng làm kệ chứa phân. Bề mặt pellet khô ráo, nhẵn, không có đầu xước tránh gây rách bao, giấy đựng phân bón.
- Phân bón dự trữ nên được bọc vải, màng phía trên chông phân để tránh nhiệt cũng bụi bẩn bám phía trên chông phân.
- Để chông phân cách xa ít nhất 5m với các loại vật liệu dễ cháy, khoảng cách của chông phân với mái nhà ít nhất 1m, cách tường ít nhất 1m.

Đối với người sử dụng, đại lý bán lẻ cần tuân theo nguyên tắc:

- Chống lẫn lộn, khi đã lấy ra khỏi bao, cân ghi nhận hay đánh dấu, tránh nhầm loại này ra loại khác.
- Chống ẩm: để phân nơi cao ráo. Các loại cần chú ý chống ẩm là sunfat amon, clorua amoni, nitrat amoni, urê, surpe lân. Nên để trong chum vại sành đậy mùng rơm. Nếu trong bao nilong thì bao phải buộc kín, không thủng. Các bao phân không đặt trực tiếp trên sàn xi măng hay nền đất, mà nên đặt trên giá gỗ, kệ.
- Chống axit: Các loại phân đạm và supe lân có tính axit (chua) nên dụng cụ đựng dễ bị mục. Thùng, xéng xúc phân phải rửa sạch trước khi để khô.
- Chống nóng: Một số loại phân (như nitrat amon) gặp nóng gây nổ, tuyệt đối không để gần lửa. Các loại phân đạm nói chung (dễ bốc hơi khi gặp nóng nên không phơi ở nơi nắng to khi bị ướt mà hong trong mát).

3.5.2.5. Chuẩn hoá chất lượng cho sản phẩm phân nhả chậm

Sau khi hoàn thiện qui trình sản xuất, 2 loại phân nhả chậm NPK 15:18:18, 20:0:18 được xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và đã được xác nhận hợp chuẩn chất lượng hàng hóa theo số Quyết định 01/2020/TCCS-CNC ký ngày 6/1/2020.

3.5.3. Nghiên cứu khảo nghiệm đánh giá tác dụng đối với cây cà phê

3.5.3.1. Kết quả khảo nghiệm diện hẹp

a) Nhận xét tình hình sinh trưởng, phát triển của cây trồng trong thí nghiệm

- Chiều cao cây: sau thời gian 6 tháng bón phân chiều cao cây của các công thức sử dụng phân bón nhả chậm phát triển tốt hơn so với các công thức bón phân thường, giữa hai công thức bón phân nhả chậm không có sự khác biệt. Tuy nhiên sự khác biệt không đáng kể do độ tuổi vườn cà phê lớn, cây đã phát triển ổn định chiều cao tại vườn thí nghiệm Đắc Lắc. Tại mô hình thí nghiệm ở Đắc Nông cho thấy có sự khác biệt đáng kể giữa các mô hình, trong đó phân bón nhả chậm sử dụng với lượng bón tương đương lượng phân bón thường thì chiều cao cây phát triển thêm 0,26m và tại ô thí nghiệm sử dụng lượng bón tương đương 70% phân bón thường chiều cao cây cũng tăng 0,24m so với đối chứng. Lượng dinh dưỡng từ phân bón được cung cấp liên tục cho cây cà phê đã giúp cây phát triển liên tục và khỏe hơn so với các ô thí nghiệm đối chứng.

- Đường kính tán: Đường kính tán lá của cây cà phê thí nghiệm tại Đắc Lắc giữa các ô thí nghiệm bón đối chứng và bón phân nhả chậm hầu như không có sự khác biệt, do cà phê không có sự phân nhánh cao và là họ thực vật tán thấp. Quá trình chăm sóc, tỉa cành, tạo tán cho cây cà phê có hiệu quả người trồng chỉ để lại các cành cấp 1 và 2 nên việc phát triển tán cây không có sự khác biệt đáng kể khi cà phê trưởng thành. Tuy nhiên tại mô hình thí ở Đắc Nông cho thấy đường kính tán lá tại mô hình thí nghiệm sử dụng phân nhả chậm cho kết quả cao nhất đến 0,29m và 0,22m tại mô hình sử dụng phân bón nhả chậm với lượng bón tương đương 70% so với phân bón thường đường kính tán trung bình chỉ tăng thêm 0,14m. Việc tăng chiều dài cành sẽ góp phần tăng số đốt mang trái trên cành từ đó giúp tăng sản lượng cà phê thu được.

- Số lượng cành phát sinh: Sử dụng phân bón nhả chậm cho thấy số lượng cành phát sinh đáng kể sau quá trình thí nghiệm. Từ kết quả quá trình thí nghiệm tại cả Đắc Lắc và Đắc Nông đều cho thấy việc sử dụng phân bón đã giúp tăng số cành cấp 1 trên cây cà phê tăng lên một cách đáng kể. Ngoài ra chiều dài cành trung bình tại các ô thí nghiệm ở Đắc Lắc và Đắc Nông cũng cho thấy phát triển tốt hơn so với các ô thí nghiệm sử dụng phân bón thông thường từ 14 – 18 cm.

Từ đó cho thấy phân bón nhả chậm tác động tích cực đến các yếu tố nông học trong quá trình thí nghiệm phân bón nhả chậm cho cây cà phê.

b) Các yếu tố cấu thành năng suất và bội thu năng suất

- Số chùm quả trên cành: Tùy theo khoảng cách giữa các đốt trên cành mang trái của cây cà phê và trạng thái của cây tại thời kỳ ra hoa sẽ tạo ra số chùm hoa trên cành, điều kiện thời tiết tại thời điểm ra hoa cũng ảnh hưởng rất lớn đến quá trình thụ phấn và hình thành trái cà phê. Mô hình thí nghiệm tại Đắk Lắk và Đắk Nông có kết quả tương tự nhau, khi sử dụng phân bón nhả chậm cung cấp cho cây cà phê lượng phân bón được phóng thích đều đặn vào trong đất giúp cung cấp dinh dưỡng liên tục cho cây phát triển nên tăng chiều dài của các cành cà phê tại các nghiệm thực sử dụng phân nhả chậm, từ đó làm tăng số đốt trên các cành và tăng số chùm quả được hình thành. Cụ thể so với các công thức sử dụng phân bón đơn số chùm trên mỗi cành của cây cà phê tăng lên trung bình 2,1 – 2,4 chùm tại các công thức sử dụng phân bón nhả chậm với lượng NPK tương đương phân bón đơn bón cho cây cà phê theo từng giai đoạn. Tại công thức sử dụng phân bón nhả chậm với lượng NPK bằng 70% phân bón đơn cũng giúp tăng số chùm trên mỗi cành trung bình 1,6 chùm/cành. Kết quả cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa rõ ràng giữa các công thức sử dụng phân bón đơn so với phân bón nhả chậm cũng như có sự khác biệt rõ ràng của vườn thí nghiệm phân đơn và phân bón nhả chậm.

- Số trái trên chùm là một trong các yếu tố quan trọng làm cơ sở đánh giá năng suất của cây cà phê, lượng trái trên mỗi chùm phụ thuộc rất lớn vào yếu tố dinh dưỡng được cung cấp cho cây cà phê giai đoạn ra hoa và nuôi trái. Kết quả đánh giá thu thập tại các mô hình thí nghiệm cho thấy số trái trên chùm của hai mùa vụ trước khi sử dụng phân bón nhả chậm và sau khi sử dụng cho thấy lượng trái trên chùm có tăng lên khi sử dụng phân bón nhả chậm. Tại Đắk Lắk số liệu cho thấy số trái trên mỗi chùm của cây cà phê tăng lên tuy nhiên chưa có sự khác biệt rõ ràng tại công thức sử dụng phân bón nhả chậm với lượng NPK bằng 70% so với phân thường cũng như tại công thức bón phân NPK nhả chậm với lượng tương đương 100% so với phân bón thường. Tại Đắk Nông khi do điều kiện canh tác thuận lợi lượng mưa vừa phải và lượng nước tưới đủ cho vườn trong mùa khô nên kết quả có sự khác biệt rõ ràng giữa các công thức sử dụng phân bón thường so với phân bón nhả chậm. Cụ thể, khi sử dụng phân bón nhả chậm với lượng bón bằng 70% so với phân bón thường số trái trên chùm tăng trung bình 2,5 trái/ chùm và 2,7 trái/chùm khi sử dụng phân bón nhả chậm với lượng tương đương 100% so với phân bón thường.

- Khối lượng 1000 hạt nhân tươi của quả cà phê cho thấy sự khác biệt giữa các công thức sử dụng phân bón đơn, công thức sử dụng phân bón nhả chậm. Tại công thức sử dụng phân bón nhả chậm có khối lượng 1000 hạt cao hơn so với công thức bón phân đơn tại cả

2 vùng thí nghiệm, kết quả cho thấy phân bón nhả chậm cung cấp đủ dinh dưỡng cho cây cà phê trong suốt quá trình nuôi trái giúp cho nhân cà phê tại các công thức sử dụng phân bón nhả chậm có khối lượng cao hơn đáng kể. Quá trình thí nghiệm điều kiện chăm sóc của các mô hình là như nhau trong suốt quá trình thí nghiệm như lượng TBVTV sử dụng, lượng nước tưới, cắt tỉa cành....

- Số liệu thống kê cho thấy phân bón nhả chậm khi sử dụng với lượng bón bằng với phân bón đơn đã giúp tăng năng suất 25,7% và 20% tại mô hình sử dụng phân bón nhả chậm với lượng tương ứng 70% phân bón thường.

c) *Hiệu quả kinh tế của chế phẩm khảo nghiệm*

Kết quả thí nghiệm thu thập tại các ô thí nghiệm cho thấy, việc sử dụng phân bón đã góp phần tăng hiệu quả canh tác cho cây phê thông qua sản lượng thu được bình quân tại các công thức. Khi sử dụng phân bón nhả chậm với lượng N, P, K bằng với phân bón NPK thông thường giúp tăng doanh thu 28,5% tại Đắc Nông và 25,7% tại Đắc Lắc. Đối với công thức sử dụng phân bón nhả chậm bằng 70% so với phân thường cho kết quả tăng doanh thu 15,9% tại Đắc Lắc và 20% tại Đắc Nông.

Từ kết quả trên cho thấy doanh thu tại các mô hình thí nghiệm sử dụng phân bón nhả chậm cho doanh thu cao hơn so với mô hình đối chứng từ 16 – 28,5%. Từ đó cho thấy phân bón nhả chậm có tác động tích cực đến quá trình sinh trưởng và phát triển của cây cà phê cũng như có khả năng áp dụng rộng rãi vào thực tế giúp cải thiện năng suất và tăng thu nhập cho người trồng cà phê.

Từ kết quả thí nghiệm cho thấy sử dụng phân bón nhả chậm với công thức 15.18.18 tại thời điểm ra hoa, phục hồi cây, nuôi trái và phân bón 20.0.18 tại thời điểm dưỡng trái và chuẩn bị chín với lượng bón 560gram/lần bón/cây phê giúp tăng lợi nhuận cho vườn thí nghiệm 25,7 – 28,5% so với sử dụng phân bón thường.

Bón phân NPK nhả chậm 15.18.18 và NPK nhả chậm 20.0.18 với lượng bón bằng 70% so với phân bón thường giúp tăng lợi nhuận từ 15,9 – 20% so với sử dụng phân bón NPK thường. Từ kết quả thí nghiệm có thể sử dụng lượng phân bón nhả chậm với lượng từ 400 – 560 gam/lần bón cho 1 cây phê sẽ cho lợi nhuận thu được từ các mô hình tăng từ 25,9 – 28,5% so với phân bón thường. Tác động hiệu quả nông học rõ ràng đến các ô thí nghiệm cũng như quá trình phát triển của cây cà phê.

d) *Đánh giá tính chất đất được cải thiện, khả năng làm tăng miễn dịch cây trồng đối với chế phẩm có chất cải tạo đất, phân bón có tác dụng làm tăng miễn dịch cho cây trồng:*

Trong suốt quá trình thí nghiệm phân bón nhả chậm không có xuất hiện các loại bệnh, sâu gây ảnh hưởng đến năng suất, chất lượng cây trồng. Quá trình ghi nhận được đánh giá thường xuyên, liên tục định kỳ 5 – 7 ngày/ lần. Công thức phân bón cung cấp lượng dinh dưỡng tương ứng với quá trình phát triển của cây do đó một số cây cà phê bị nhiễm rệp sáp nhưng tỷ lệ cây nhiễm và số con/cây thấp.

3.5.3.2. Kết quả khảo nghiệm diện rộng

a) Nhận xét tình hình sinh trưởng, phát triển của cây trồng trong thí nghiệm

Theo số liệu thu nhận từ các mô hình thử nghiệm cho thấy việc sử dụng phân bón nhả chậm cho cây phát triển chiều cao tốt hơn so với mô hình bón phân thường. Tại mô hình thử nghiệm Đắc Lắc cho kết quả tốt nhưng không đáng kể do tuổi cây cà phê tại mô hình thử nghiệm cao. Tuy nhiên tại mô hình thử nghiệm Đắc Nông cho thấy chiều cao cây phát triển khá tốt chiều cao cây tại mô hình sử dụng phân bón nhả chậm bằng với lượng phân thường cao hơn 12%. Ngoài ra quá trình quan sát cho thấy màu sắc lá xanh đậm và bền hơn tại cả hai mô hình bón phân nhả chậm so với mô hình bón phân thường.

Số liệu minh chứng rằng khi sử dụng phân bón nhả chậm giúp cây phát triển tốt, đường kín tán lá tăng, kết quả cho thấy phân bón nhả chậm có tác động tích cực đến quá trình sinh trưởng và phát triển của cây cà phê.

b) Các yếu tố cấu thành năng suất và bội thu năng suất

- Tỷ lệ cành ra hoa và năng suất phụ thuộc trạng thái và mức độ phát triển các cành mang quả cây cà phê cùng nhiều yếu tố khác như lượng nước tưới, lượng phân bón có cân đối và hợp lý, độ tuổi cây... Kết quả thử nghiệm cho thấy lượng cành mang trái trên mỗi cây cà phê có sự khác biệt đáng kể giữa vùng đất trồng cũng như độ tuổi của cây. Cụ thể: Mô hình thử nghiệm tại Đắc Lắc cho thấy số cành mang quả tăng lên khi thực hiện và đánh giá tại vụ 2 của quá trình thử nghiệm. Trong đó, thử nghiệm sử dụng lượng phân bón nhả chậm bằng lượng phân bón thông thường cho thấy số cành mang quả tăng thêm 2 cành và sử dụng phân bón nhả chậm bằng 70% lượng phân bón thường số cành mang trái cũng tăng thêm 1,3 cành. Mô hình thử nghiệm tại Đắc Nông cây mới 6 năm tuổi nên sự khác biệt đáng kể so với mô hình tại Đắc Lắc. Tại ô thử nghiệm sử dụng phân bón chậm với lượng bón bằng 100% và 70% lượng phân bón thường cho thấy số cành mang quả cũng tăng tương ứng 2,4 và 1,4 cành tại các ô thử nghiệm.

- Số chùm quả trên cành phụ thuộc vào số đọt trên cành. Kết quả trong bảng thử nghiệm cho thấy cả ở mô hình Đắc Lắc và Đắc Nông đều tăng từ 1,5 – 2,5 chùm/cành. Từ

đó cho thấy phân bón nhả chậm dù sử dụng với lượng bón bằng 70% so với phân bón thường vẫn cho hiệu quả nông học cao hơn

- Số quả/chùm: Từ kết quả thu nhận thực tế trong quá trình thử nghiệm cho thấy số lượng quả/chùm của công thức sử dụng phân bón nhả chậm nhiều hơn từ 2 - 6,6 quả/chùm. Cùng quá trình theo dõi thấy quá trình rụng quả sinh lý tại mô hình sử dụng phân bón thường diễn ra nhiều hơn. Kết quả này ảnh hưởng lớn năng suất của vườn cà phê.

- Khối lượng 1000 hạt tươi tại mô hình phân bón thường thấp hơn mô hình bón phân nhả chậm cả ở Đắc Nông và Đắc Lắc. Trong quá trình canh tác và thử nghiệm các yếu tố khác tác động đến vườn được thực hiện như nhau. Vì vậy kết quả cho thấy lượng phân bón được cung cấp cho cây trồng tại các mô hình sử dụng phân nhả chậm được cung cấp đủ và liên tục giúp hiệu quả sử dụng phân bón cao hơn và khối lượng nhân tươi lớn hơn so mô hình sử dụng phân bón thường.

- Năng suất thực thu tổng hợp sau 2 lần thu cho thấy năng suất của ô thử nghiệm sử dụng 100% phân bón nhả chậm so với bón phân thông thường cao hơn 24 – 27,3% tại mô hình Đắc Nông và mô hình Đắc Lắc và tăng 15 – 18,5% tại mô hình sử dụng phân bón nhả chậm với lượng bằng 70% phân thường. Kết quả cho thấy phân bón nhả chậm đã tác động tích cực đến quá trình sinh trưởng và phát triển của cây cà phê cũng như quá trình nuôi dưỡng trái cà phê từ thời điểm hình thành đến thời điểm chín.

c) Hiệu quả kinh tế của chế phẩm khảo nghiệm

Từ bảng số liệu tổng hợp thử nghiệm phân bón nhả chậm tại Đắc Lắc cho thấy chi phí cho mô hình sử dụng phân bón nhả chậm tăng thêm 11% và 3% lần lượt tại mô hình sử dụng phân bón nhả chậm với lượng bón bằng 100% và 70% so với phân bón thường.

Tuy nhiên với kết quả năng suất tăng lên đáng kể nên doanh thu và lợi nhuận mang lại đáng kể cho mô hình sử dụng phân bón nhả chậm. Cụ thể, Lợi nhuận tại mô hình sử dụng phân bón nhả chậm bằng 100% phân bón thường giúp tăng lợi nhuận 29,6% và tại ô thử nghiệm với lượng phân nhả chậm bằng 70% lượng phân thường giúp tăng lợi nhuận thêm 25,1% so với đối chứng.

Công thức phân bón nhả chậm cho thấy hiệu quả rõ ràng trên diện rộng tại mô hình thử nghiệm Đắc Nông với diện tích thử nghiệm 2,7ha. Kết quả cho thấy mô hình thử nghiệm phân bón nhả chậm (=100% phân thường) cho năng suất cao nhất 10,62 tấn/ha và ô thử nghiệm (=70% phân thường) cho năng suất cao thứ hai 9,65 tấn/ha. Với chi phí đầu tư tăng

thêm lần lượt tại hai mô hình là 9,2 và 1,2 triệu đồng từ đó tính ra cho thấy khi sử dụng phân bón nhả chậm lợi nhuận tăng thêm tại hai mô hình lần lượt là 66 triệu đồng và 42 triệu đồng.

Từ kết quả trên cho thấy ứng dụng phân nhả chậm vào thực tế sẽ mang lại hiệu quả đáng kể cho việc canh tác cây cà phê tại Đắk Lắk và Đắk Nông nói riêng cũng như trên toàn Tây Nguyên nói chung.

e) *Đánh giá tính chất đất được cải thiện, khả năng làm tăng miễn dịch cây trồng đối với chế phẩm có chất cải tạo đất, phân bón có tác dụng làm tăng miễn dịch cho cây trồng*

- Chỉ tiêu đất

Kết quả phân tích tại Đắk Lắk: Kết quả phân tích trước và sau thử nghiệm phân bón nhả chậm cho thấy các thành phần kim loại trong đất không có sự biến đổi lớn, sự khác biệt trong kết quả phân tích là sai số trong quá trình phân tích kết hợp với các thành phần kim loại có trong lượng phân lân, vôi bổ sung trong quá trình canh tác cây cà phê. Đạm và kali là hai thành phần dễ bị rửa trôi bởi nước do tưới hoặc mưa, tuy nhiên chúng được cố định trong cấu trúc của phân tử ureformanlin nên kali được phóng thích ra môi trường chậm hơn và cản trở quá trình lôi cuốn kali theo, N được phóng thích thông qua quá trình cắt mạch và phân hủy phân tử ureformanlin nên lượng N còn lại đáng kể sau quá trình thử nghiệm. Đối với chỉ tiêu P_2O_5 tổng số có chênh lệch do trong quá trình canh tác lân được bổ sung có độ hòa tan kém trong nước nên ít bị rửa trôi và còn lại đáng kể sau quá trình thử nghiệm.

Kết quả phân tích tại Đắk Nông: Bảng kết quả phân tích đất trước và sau thử nghiệm tại Đắk Nông có thể thấy rằng không có sự thay đổi đáng kể hàm lượng các loại kim loại trong đất. Trong đó lượng N tổng số, K_2O tổng số, P_2O_5 tổng số tăng lên đáng kể do chúng ít bị thất thoát bởi rửa trôi cũng như quá trình phân hủy do ánh sáng, chúng bị giữ lại trong cấu trúc của chuỗi ureformalin cũng như ureformalin chậm phân hủy bởi các yếu tố môi trường như nước, ánh sáng, nhiệt độ, VSV nên hàm lượng của chúng còn trong đất cao hơn so với trước thử nghiệm.

- Tình hình sâu bệnh hại: Trong quá trình thực hiện thử nghiệm phân bón, các mô hình liên tục được theo dõi đánh giá tình hình sâu bệnh cùng lượng nước tưới phù hợp theo điều kiện canh tác tại Đắk Nông và Đắk Lắk. Kết quả cho thấy:

Tại Đắk Lắk, các mô hình sử dụng phân bón thường có bị nhiễm bệnh tuyến trùng và nấm hồng trong mùa mưa, tại mô hình thử nghiệm phân bón nhả chậm không phát hiện bị nhiễm bệnh. Tuy nhiên nhằm đảm bảo không ảnh hưởng đến sức khỏe cây của vườn nên việc xử lý, phun thuốc diệt và phòng ngừa được thực hiện trên cả vườn.

Tại Đăk Nông, nấm hồng và tuyến trùng tấn công trên mô hình sử dụng phân bón thường và không phát hiện trên mô hình thử nghiệm phân nhả chậm. Việc xử lý mầm bệnh và phòng ngừa lây lan được thực hiện trên toàn vườn nhằm đảm bảo quá trình thử nghiệm cũng như bảo vệ vườn.

Kết quả tại Đăk Lăk và Đăk Nông có điểm tương đồng là không thấy xuất hiện nấm và tuyến trùng tại ô thử nghiệm phân bón nhả chậm. Tuy nhiên, kết quả này cần được nghiên cứu và đánh giá chính xác trong phòng thí nghiệm và kiểm chứng nhằm có khuyến cáo đúng cho người sử dụng.

3.5.3.3. Quy trình và hướng dẫn sử dụng

Kết quả khảo nghiệm diện rộng và diện hẹp cho thấy:

(1). Phân bón nhả chậm có tác động tích cực đến quá trình sinh trưởng và phát triển của cây tại các chỉ tiêu đánh nông học như chiều cao cây, đường kính tán lá, số cành mang quả, số chùm trên cành, số quả trên chùm, năng suất...

(2). Về hiệu quả tác động kinh tế cho thấy khi sử dụng phân bón nhả chậm NPK 15.18.18 giai đoạn phục hồi cây dưỡng trái và NPK 20.0.18 giai đoạn thúc trái chín đã góp phần tăng thêm lợi nhuận cho người canh tác cà phê từ 29 – 32% khi sử dụng lượng bón tương ứng 560 gram/gốc/lần bón với số lần bón (bón 4 lần/vụ). Đối với lượng phân bón nhả chậm sử dụng tương ứng 400 gam/cây/lần bón (bón 4 lần/vụ) sẽ giúp tăng thêm lợi nhuận từ 21 – 25% so với sử dụng phân bón thường (phân bón NPK cùng công thức).

(3). Đối với môi trường lượng phân bón được giữ lại và tích lũy trong đất, giảm thất thoát vào trong nước ngầm.

Hướng dẫn sử dụng chế phẩm

Từ kết quả khảo nghiệm diện hẹp và diện rộng trên cây cà phê kiến thiết, đề xuất hướng dẫn sử dụng chế phẩm như sau

Phân đa lượng nhả chậm 15-18-18

Thành phần:

- Nitơ tổng số: 15%;
- P₂O₅ tổng số: 18%;
- K₂O tổng số: 18%;
- Độ ẩm max: 5%.

Liều lượng:

Cà phê: 300 - 500kg/ha/lần bón vào đầu mùa khô (tháng 2 – tháng 4 âm lịch hàng năm hoặc sau khi thu hoạch. Ngoài ra có thể bón đều trong năm định kỳ 90 ngày/lần bón, có thể tăng hoặc giảm lượng phân bón tùy theo từng loại đất.

Cách bón:

Cách 1: Xới xáo đất, vệ sinh sạch cỏ xung quanh tán lá trước khi bón nhằm đảm bảo phân bón không bị dồn về một góc, tưới nước đều sau khi bón phân (lưu ý: khi tưới nước tránh tưới thành dòng nước mạnh làm phân bón tụ lại làm phân bón không phân bố đều xung quanh tán lá làm ảnh hưởng đến rễ cây)

Cách 2: Tạo rãnh sâu 10 – 15cm, rộng 20 – 30cm xung quanh tán lá và bón đều lượng phân bón tương ứng, lấp đất trước khi tưới, tưới nước đều sau khi bón phân (Lưu ý: Tránh làm đứt nhiều rễ non của cây, bón trực tiếp lên rễ non xung quanh tán lá sẽ làm ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của cây).

Phân đa lượng nhả chậm 20-0-18

Thành phần:

- Nitơ tổng số: 20%;
- P₂O₅ tổng số: 0%;
- K₂O tổng số: 18%;
- Độ ẩm max: 5%.

Liều lượng:

Cà phê: 300 - 500kg/ha/lần bón vào cuối mùa mưa (tháng 11 – tháng 1 âm lịch hàng năm) hoặc sau trước khi thu hoạch 45 – 60 ngày, có thể tăng hoặc giảm lượng phân bón tùy theo từng loại đất.

Cách bón:

Cách 1: Xới xáo đất, vệ sinh sạch cỏ xung quanh tán lá trước khi bón nhằm đảm bảo phân bón không bị dồn về một góc, tưới nước đều sau khi bón phân (lưu ý: khi tưới nước tránh tưới thành dòng nước mạnh làm phân bón tụ lại làm phân bón không phân bố đều xung quanh tán lá làm ảnh hưởng đến rễ cây)

Cách 2: Tạo rãnh sâu 10 – 15cm, rộng 20 – 30cm xung quanh tán lá và bón đều lượng phân bón tương ứng, lấp đất trước khi tưới, tưới nước đều sau khi bón phân (Lưu ý: Tránh làm đứt nhiều rễ non của cây, bón trực tiếp lên rễ non xung quanh tán lá sẽ làm ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của cây).

3.6. HOÀN THIỆN QUY TRÌNH SỬ DỤNG THUỐC TRỪ SÂU THẢO MỘC ANISAF SH01 CHO CÂY CÀ PHÊ VÀ HỒ TIÊU

3.6.1. Nghiên cứu khảo nghiệm đánh giá tác dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trên cây cà phê và hồ tiêu

3.6.1.1. Thông tin chung

a. Thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01

Thành phần: polyphenol chiết xuất từ thực vật

Công dụng chủ yếu: phòng ngừa và tiêu diệt các loại sâu ăn miệng: sâu xanh, sâu tơ, sâu róm, sâu xám, bọ có cánh. Kết quả đề tài TN3/C01 cho thấy: (1). Thuốc có tác dụng tiêu diệt khi tiếp xúc, có tác dụng xua đuổi khi sâu bọ tới gần cây, hòng ngừa và tiêu diệt các loại bọ “chích hút” như muỗi, bọ xít, các loại rệp (rệp sáp, rệp xanh...). (2). Thuốc không gây hại đến cây trồng. (3). Thuốc có lợi cho sự phát triển của lá và bộ rễ, giúp cây phát triển tốt và sử dụng triệt để hiệu quả dinh dưỡng khi bón phân.

b. Yêu cầu, mục đích khảo nghiệm:

Đánh giá ảnh hưởng của thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 một số sâu bệnh hại chính trên cây cà phê và hồ tiêu, đến sinh trưởng và năng suất, một số đặc tính hóa sinh của đất trồng cây cà phê và hồ tiêu.

c. Đối tượng cây khảo nghiệm:

- Cà phê giai đoạn kiến thiết
- Cà phê giai đoạn kinh doanh.
- Hồ tiêu giai đoạn kinh doanh

3.6.1.2 Kết quả khảo nghiệm trên cây cà phê giai đoạn kiến thiết

3.6.1.2.1. Kết quả đánh giá hiệu lực của thuốc trên một số sâu bệnh gây hại chính.

a) Đánh giá hiệu lực của thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trong việc phòng trừ rệp sáp (Pseudococcus sp.) gây hại trên cây cà phê kiến thiết.

Rệp sáp (*Pseudococcus* sp) gây hại trên cây cà phê xuất hiện và lây lan rất nhanh, nếu gặp điều kiện thời tiết thuận lợi như vào mùa khô, hạn hán hay giai đoạn giao mùa nắng mưa xen kẽ, chúng bùng phát thành dịch và trở thành mối lo ngại cho người trồng cà phê. Ngoài ra khi rệp sáp phát triển mạnh cũng tạo điều kiện thuận lợi cho nấm muội đen phát sinh, gây hại, làm giảm khả năng quang hợp của cây làm lá úa vàng; quả khô dần rồi rụng

hiều. Rệp sáp được coi là một trong những côn trùng gây hại nguy hiểm và thường xuyên nhất đối với cây cà phê, chúng có sức tấn công lớn, lan tràn dịch bệnh nhanh và rất khó điều trị, vì vậy biện pháp phòng trừ rệp sáp gây hại trên cây cà phê là yếu tố luôn được đề cao. Kết quả của thí nghiệm đánh giá hiệu lực của thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trong phòng trừ rệp sáp gây hại trên cây cà phê kiến thiết tại tỉnh Đắk Lắk cho thấy: trước khi xử lý thuốc tất cả các công thức thí nghiệm đều đang bị rệp sáp gây hại trên quả cà phê. Trong số các công thức nghiên cứu thì công thức bị gây hại nặng nhất là công thức 2 (thuốc Movento 150 OD), công thức 5 (thuốc ANISAF SH01 nồng độ 0,7%) và công thức 6 (thuốc ANISAF SH01 nồng độ 1%) với số chùm quả bị rệp sáp gây hại là 43 chùm/240 chùm quả điều tra. Công thức bị rệp sáp gây hại ít nhất là công thức Đối chứng và công thức ANISAF SH01 nồng độ 0,3%; có số chùm quả bị rệp sáp gây hại là 30 chùm/240 chùm quả điều tra. Sau 15 ngày xử lý thuốc thì hiệu lực trừ rệp sáp ở các ô thí nghiệm dao động từ 9,09% đến 48,43%. Trong đó hiệu lực của thuốc hóa học Movento 150 OD là cao nhất (hiệu lực phòng trừ là 48,43%), còn hiệu lực diệt trừ rệp sáp của thuốc ANISAF SH01 ở nồng độ thử 0,5% được đánh giá là thấp nhất (hiệu lực phòng trừ là 9,09%). Hiệu lực của các thuốc sử dụng trong thí nghiệm đã tăng rõ rệt sau 20 và 30 ngày xử lý, đặc biệt ở công thức số 2, 4 và số 5. Ở công thức thí nghiệm sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc Movento 150 OD (Công thức 2) hiệu lực của thuốc tăng nhanh từ 48,43% lên 75,58% (sau 20 ngày xử lý) và tăng lên 83,58% (sau 30 ngày xử lý). Ở công thức thí nghiệm sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 với nồng độ 0,7% (Công thức 4) hiệu lực của thuốc tăng nhanh từ 42,37% lên 61,63% (sau 20 ngày xử lý) và tăng lên 79,48% (sau 30 ngày xử lý). Còn ở công thức sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 với nồng độ 1% (Công thức 5) hiệu lực của thuốc tăng nhanh từ 45,40% lên 65,12% (sau 20 ngày xử lý) và tăng lên 79,48% (sau 30 ngày xử lý). Kết quả này chứng tỏ, thuốc ANISAF SH01 có hiệu lực với rệp sáp cao và hiệu quả của thuốc vẫn tăng sau 10 ngày xử lý. Từ các kết quả thu được, nhận thấy: thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 ở nồng độ 0,7% và 1% có hiệu lực diệt trừ rệp sáp khá tốt (hiệu lực là 79,48%) và chỉ thấp hơn một chút so với thuốc hóa học Movento 150 OD. Như vậy thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 nồng độ 0,7% lượng dùng là 4lít/cây có thể được sử dụng để diệt trừ rệp sáp gây hại trên cây cà phê theo hướng bền vững.

b) Đánh giá tác dụng phòng trừ bệnh vàng lá và ảnh hưởng của của thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 đối với cây cà phê kiến thiết

Kết quả điều tra theo tiêu chí phân loại trên tại Đắk Lắk và Lâm Đồng năm 2015 cho thấy tỷ lệ vườn có cây bị vàng lá thối rữa < 10% chiếm 51,97%, tỷ lệ cây vàng lá thối rữa từ 10 - 20% chiếm gần 13,18%. Vườn có tỷ lệ chết trên 20% là 35,64%. Những vườn có tỷ lệ cây vàng lá thối rữa cao thường thể hiện rõ ở tuổi cây cà phê từ 2 - 3 năm với tỷ lệ cây vàng lá thối rữa từ trên 20% đến 40%. Đánh giá tỷ lệ cây bị vàng và tính chỉ số vàng lá tại các ô thí nghiệm sau khi xử lý thuốc ANISAF SH01, kết quả thu được cho thấy, tỷ lệ cây cà phê bị vàng lá tại các ô thí nghiệm sử dụng ANISAF SH01 có giảm so với ô đối chứng. Hiệu quả cao nhất là ô thí nghiệm sử dụng ANISAF SH01 (nồng độ 1%), tỷ lệ cây bị vàng lá giảm 1,7% so với trước khi thí nghiệm và giảm 3,0% so với đối chứng.

3.6.1.2.2. Kết quả đánh giá tác dụng của thuốc đến một số chỉ tiêu sinh trưởng, năng suất, chất lượng và đất trồng.

a) Nhận xét tình hình sinh trưởng, phát triển của cây trồng trong thí nghiệm:

- Theo cách nhìn tổng quan ban đầu, nhận thấy cây cà phê của mô hình thí nghiệm có lá xanh mượt hơn so với mô hình đối chứng (lá cây hơi ngả vàng).

- Trong mỗi công thức thí nghiệm, chọn cây cà phê có lá xanh, dày hơn và bóng mượt hơn các mô hình đối chứng trong mọi thời điểm sinh trưởng của cây. Để theo dõi số cặp lá mới mọc ra trên đoạn cành dài 50 cm (tính từ đỉnh sinh trưởng của cành vào thân) của 30 cây cà phê ở mỗi ô thí nghiệm nghiên cứu, mỗi cây theo dõi trên 4 cành ở 4 hướng khác nhau và các cành này có sự sinh trưởng tương đối đồng đều nhau. Kết quả cho thấy: Số cặp lá mới mọc/cành ở công thức thí nghiệm luôn cao hơn mô hình đối chứng qua các tháng theo dõi. Như vậy, nhận thấy thấy rằng không có sự khác biệt rõ rệt giữa các công thức thí nghiệm. Nhưng về màu sắc cảm quan bằng mắt thì lá ở các ô có tưới thuốc trừ sâu Anisaf SH 01 xanh và mượt hơn so với màu lá của cây cà phê ở công thức đối chứng.

- Trung bình chiều dài cành qua 7 tháng theo dõi ở các công thức thí nghiệm, thì chiều dài cành ở công thức TN3 có sự tăng trưởng cao nhất là 18,34 cm/7 tháng, tiếp đến là công thức TN 2 với 16,48cm/7 tháng và thấp nhất là công thức đối chứng đạt 15,7 cm/7 tháng. Tại đây, ta đã nhận thấy sự ảnh hưởng của thuốc trừ sâu thảo mộc Ansif-SH01 đến sự phát triển chiều dài cành cây cà phê kiến thiết. Chứng tỏ công thức sử dụng công thức

TN3, tưới 2,5 lít thuốc ANISAF SH01 nồng độ 0,7% 5 lần/năm có tác dụng thúc đẩy kích thích sự tăng trưởng về chiều dài cành trên cà phê thời kỳ kiến thiết.

- Sự tăng trưởng chiều dài cành ở các công thức thí nghiệm trong mô hình khảo nghiệm đều cao hơn ở mô hình đối chứng qua các tháng theo dõi, tăng mạnh nhất từ tháng 5 đến tháng 9. Tại các tháng đầu tiên khi theo dõi mô hình, sự tăng trưởng chiều dài cành giữa mô hình thí nghiệm 1 (*tăng 5,73 cm*) và mô hình đối chứng (*tăng 5,11 cm*) là gần như tương đương nhau; nhưng bắt đầu từ tháng 5 thì mô hình TN 3 có chiều dài cành tăng nhanh hơn mô hình đối chứng, đặc biệt là tháng 8 và 9 thì mô hình thí nghiệm có sự tăng trưởng chiều dài cành khác biệt rất rõ so với mô hình đối chứng.

- Phân tích sự tăng trưởng của số đốt/cành ở mô hình thí nghiệm được thu thập nhận thấy số đốt/cành ở các ô thí nghiệm luôn cao hơn mô hình đối chứng qua các tháng theo dõi. Các đốt tăng mạnh nhất từ tháng 3÷ tháng 7. Trong thực tế khi quan sát các cây cà phê, nhận thấy cây cà phê của mô hình thí nghiệm có các đốt mới mọc dài hơn so với mô hình đối chứng, và mô hình thí nghiệm cũng có sự phát cành nhiều hơn so với mô hình đối chứng.

b) *Các yếu tố cấu thành năng suất và bội thu năng suất:*

- *Tỷ lệ đậu quả và số đốt mang quả/cành:* Các công thức thí nghiệm ở mô hình có số đốt mang quả/cành cao hơn mô hình đối chứng. Đặc biệt ở giai đoạn gần thu hoạch thì mô hình thí nghiệm có số quả/3 đốt gần thân nhiều hơn so với mô hình đối chứng. Điều đó cho thấy năng suất thực thu của mô hình thí nghiệm sẽ có triển vọng cao hơn mô hình đối chứng. Công thức TN 3 tưới thuốc ANISAF SH01 ở nồng độ 0,7%, liều lượng 2,5 lít/gốc với 5 lần tưới/năm, có số cặp lá mới mọc ra, có số đốt mang quả/cành và số quả/3 đốt gần thân cao hơn so với công thức đối chứng. Ở công thức TN 3 cho thấy cây cà phê có sự sinh trưởng phát triển khác biệt hẳn so với công thức đối chứng, như có màu sắc lá xanh đậm hơn, lá bóng, mượt hơn và kích cỡ lá to hơn hẳn các cây ở ô đối chứng; độ phân cành mạnh hơn so với ô đối chứng, các cành mập, khỏe và đều hơn. Trong đó công thức TN 3 số liệu về các chỉ tiêu cao nhất là công thức thí nghiệm số 3, với số chùm hoa/cành là 7,68; tỷ lệ đậu quả là 92,39%; số đốt mang quả/cành 7,06 đốt; số quả/3 đốt gần thân đạt 29.06 quả.

Các thí nghiệm trong mô hình khảo nghiệm có năng suất thực thu cao hơn so với mô hình đối chứng và mô hình TN1 và TN2 có năng suất là tương đương nhau. Cao nhất ở TN 3, năng suất đạt 2,92 tấn/ha, cao hơn 0,42 tấn so với công thức đối chứng.

Nhìn chung, việc sử dụng thuốc ANISAF SH01 nồng độ 0,7% có sự ảnh hưởng tới sinh trưởng phát triển của cây cà phê kiến thiết. Và công thức thí nghiệm 3 sử dụng ANISAF SH01 nồng độ 0,7% với liều lượng tưới 2,5 lít/gốc, với số lần tưới là 5 lần/năm có ảnh hưởng rõ rệt nhất tới sinh trưởng, phát triển cây cà phê kiến thiết trong mô hình khảo nghiệm so với công thức đối chứng.

c) *Đánh giá chất lượng sản phẩm:*

Các chỉ tiêu đánh giá chất lượng quả tươi và hạt khô gồm có: số quả/kg, tỷ lệ quả lỗi, tỷ lệ quả xanh, khối lượng 100 nhân, độ ẩm sau khi phơi, tỷ lệ hạt trên các loại sàng có kích cỡ Ø18, Ø 16, Ø 14, Ø 12. Kết quả thu được:

- *Chỉ tiêu đánh giá số quả/kg:* Công thức đối chứng có số quả nhiều nhất 987quả/1 kg, công thức thí nghiệm TN3 có số quả ít nhất 956quả/1kg. Như vậy kết luận rằng quả cà phê ở công thức TN3 là to nhất so với 3 công thức còn lại, quả cà phê của mô hình đối chứng nhỏ nhất trong số 4 công thức thí nghiệm theo dõi.

- *% tỷ lệ quả lỗi:* ở công thức TN3 là ít nhất 1,01%, tiếp đó đến công thức đối chứng 1,1%, công thức TN1: 1,13% và nhiều nhất là công thức TN2: 1,2%.

- *Tỷ lệ quả xanh (%):* Công thức ĐC chiếm nhiều nhất 0,22%, ít nhất là công thức thí nghiệm TN1 0,15%. Tỷ lệ quả xanh của công thức thí nghiệm TN1 và TN3 chênh nhau không nhiều so với TN1 chiếm 0,15%, công thức TN3 chiếm 0,16%. Hai công thức ĐC và TN2 có tỷ lệ % quả xanh gần như nhau là 0,22 % và 0,2%.

- *Khối lượng 100 nhân (g):* ở công thức đối chứng thấp nhất chiếm 11,8g. Công thức đối chứng và công thức TN1 có kết quả gần nhau, 100 nhân của TN1 là 12,01g. Công thức TN2 là 12,6g; TN3 là 12,8g, hai công thức TN2 và TN3 có khối lượng 100 nhân chênh nhau không nhiều. Như vậy cả 3 công thức tưới Anisaf-SH 01 khối lượng nhân to hơn công thức đối chứng và khối lượng 100 nhân của công thức thí nghiệm TN3 nặng nhất. Từ kết quả này tỷ lệ thuận với kết quả của chỉ tiêu số quả/kg ở thí nghiệm TN3 có quả to nhất.

- *Tỷ lệ hạt trên sàng:* Hạt trên sàng Ø16 và Ø18 của cả 4 công thức có sự chênh nhau không đáng kể. Sang đến tỷ lệ lọt sàng Ø14 có sự phân biệt rõ hơn, ở công thức ĐC tỷ lệ hạt trên sàng chiếm 23,9% là thấp nhất so với 3 công thức thí nghiệm, công thức TN1 và TN2 có tỷ lệ % gần như nhau, lần lượt theo tỷ lệ 24,62% và 24,6%. Công thức TN3 có tỷ lệ hạt trên sàng Ø14 là cao nhất chiếm 26,5%.

- *Tỷ lệ hạt trên sàng Ø12*: Công thức ĐC có tỷ lệ là: 10,89%; TN1: 10,2%; TN2: 10,9%, công thức TN3 có tỷ lệ hạt trên sàng thấp nhất là 9,1%. Đối với công thức TN3 xếp hạng 2. Công thức đối chứng không đủ điều kiện xếp hạng 2. Công thức TN1 không đủ điều kiện xếp hạng 2. Cả phê công thức TN2 không đủ điều kiện xếp hạng 2.

Như vậy trong 4 công thức thí nghiệm theo dõi chỉ có duy nhất công thức TN3 hạt cà phê đủ tiêu chuẩn xếp hạng 2.

- *Độ ẩm sau khi phơi*: Cả 4 thí nghiệm đều cho cùng 1 kết quả về độ ẩm sau khi phơi là 10%.

d) *Đánh giá tính chất đất được cải thiện, khả năng làm tăng miễn dịch cây trồng đối với chế phẩm có chất cải tạo đất, phân bón có tác dụng làm tăng miễn dịch cho cây trồng*:

- Sau khi triển khai thí nghiệm pH và độ ẩm đất tăng nhẹ ở các thí nghiệm tưới ANISAF SH01 điều này có thể do sự biến đổi của khí hậu và chế độ canh tác. Riêng mô hình ĐC pH có một chút giảm nhẹ trước và sau thí nghiệm.

- Cùng với chất hữu cơ, VSV sống trong đất có ý nghĩa quan trọng với cây trồng. Hầu như mọi quá trình xảy ra trong đất đều có sự tham gia trực tiếp hoặc gián tiếp của VSV (mùn hóa, khoáng hóa chất hữu cơ, phân giải, giải phóng chất dinh dưỡng vô cơ từ hợp chất khó tan hoặc tổng hợp chất dinh dưỡng từ môi trường...). Đã tiến hành điều tra sự biến động của khu hệ VSV hiếu khí tổng số và một số nhóm VSV hữu ích trong các mẫu đất theo dõi thí nghiệm. Kết quả phân tích số lượng VSV tổng số trong các mẫu đất trồng cà phê giai đoạn kiến thiết cho thấy ở công thức đối chứng (ĐC) VK hiếu khí tổng số (VKHK TS) và XK tổng số giảm dần trước và sau thí nghiệm. Các công thức tưới thuốc Anisaf-SH01, số lượng VK hiếu khí tổng số và XK tổng số cao trong các mẫu đất trồng cà phê giai đoạn kiến thiết và có sự biến động nhiều về số lượng VK hiếu khí tổng số trước và sau thí nghiệm. Mật độ nấm mốc tổng số trong các mẫu đất trồng cà phê thuộc mức độ trung bình và các mẫu thí nghiệm có số lượng nấm mốc tổng số tăng so với trước thí nghiệm, tăng cao nhất là thí nghiệm TN3.

- Kết quả đánh giá nhóm VK cố định đạm trong các mẫu đất trồng cà phê giai đoạn kiến thiết cũng cho thấy:

Với nhóm *Azotobacter* ở công thức đối chứng trước và sau thí nghiệm không có nhóm này. Các công thức thí nghiệm trước và sau thí nghiệm đều có nhóm này trong đất, sau thời

gian sau 12 tháng sử dụng Anisaf-SH 01 số lượng VK cố định nito *Azotobacter* tăng hơn so với trước thí nghiệm.

Với nhóm *Acetobacter* trước khi triển khai thí nghiệm thấy nhóm VK này tồn tại ở cả 4 mẫu đất được kiểm tra với số lượng thấp khoảng $(3,8 - 4,3) \times 10^2$ CFU/g. Sau khi triển khai thí nghiệm số lượng nhóm này tăng lên cả 4 thí nghiệm, tăng cao nhất ở thí nghiệm TN3, sau đó đến công thức ĐC, thấp nhất thí nghiệm TN1.

Với nhóm *Azospirillum* trước khi triển khai thí nghiệm có sự tồn tại của nhóm VK này ở cả 4 mẫu đất của 4 công thức thí nghiệm được kiểm tra với số lượng thấp chỉ ở 10^2 CFU/g. Sau khi triển khai thí nghiệm số lượng nhóm VK này giảm ở mẫu ĐC, các mẫu thí nghiệm TN1, TN2, TN3 có sự tăng nhẹ từ $(0,2 - 1,25) \times 10^2$ CFU/g sau 12 tháng so với trước khi thí nghiệm, tăng nhiều nhất ở thí nghiệm TN3 tăng lên $1,25 \times 10^2$ CFU/g.

- Kết quả đánh giá nhóm VK phân giải lân trong các mẫu đất trồng cà phê cho thấy trước khi triển khai thí nghiệm nhóm VK này tồn tại tương đối ở cả 4 mẫu đất được kiểm tra với số lượng khoảng 10^4 CFU/g. Số lượng nhóm VSV này so với đất trồng nói chung là không thấp so với các vùng đất trồng khác. Sau thí nghiệm 12 tháng số lượng VK phân giải lân tăng cao từ $23,53 - 25 \times 10^4$ CFU/g ở các mẫu thí nghiệm tưới thuốc Anisaf-SH 01, tăng cao nhất ở thí nghiệm TN3 và thấp nhất ở thí nghiệm đối chứng.

3.6.1.3. Kết quả khảo nghiệm cây cà phê giai đoạn kinh doanh

3.6.1.3.1. Kết quả đánh giá hiệu lực của thuốc trên một số sâu bệnh gây hại chính

a) *Đánh giá hiệu lực của thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trong việc phòng trừ rệp sáp (*Pseudococcus* sp.) gây hại trên cây cà phê kinh doanh.*

Rệp sáp (*Pseudococcus* sp.) gây hại trên cây cà phê xuất hiện và lây lan rất nhanh, nếu gặp điều kiện thời tiết thuận lợi như vào mùa khô, hạn hán hay giai đoạn giao mùa nắng mưa xen kẽ, chúng bùng phát thành dịch và trở thành mối lo ngại cho người trồng cà phê. Ngoài ra khi rệp sáp phát triển mạnh cũng tạo điều kiện thuận lợi cho nấm muội đen phát sinh, gây hại, làm giảm khả năng quang hợp của cây làm lá úa vàng; quả khô dần rồi rụng nhiều. Rệp sáp được coi là một trong những côn trùng gây hại nguy hiểm và thường xuyên nhất đối với cây cà phê, chúng có sức tấn công lớn, lan tràn dịch bệnh nhanh và rất khó điều trị, vì vậy biện pháp phòng trừ rệp sáp gây hại trên cây cà phê là yếu tố luôn được đề cao. Kết quả sau 15 ngày xử lý thuốc thì hiệu lực trừ rệp sáp ở các ô thí nghiệm dao động

từ 55,3% đến 79,1%. Trong đó hiệu lực của thuốc hóa học Movento 150 OD là cao nhất (hiệu lực phòng trừ là 79,1%), còn hiệu lực diệt trừ rệp sáp của thuốc ANISAF SH01 ở cả 4 nồng độ thử (nồng độ 0,3%; 0,5%; 0,7% và 1%) được đánh giá tương đương nhau và dao động từ 55,3%-57,6%. Sau 14 ngày và 21 ngày xử lý thuốc, hiệu lực trừ rệp sáp ở các công thức thí nghiệm đều đã tăng rất nhanh. Cụ thể, ở công thức dùng thuốc hóa học thì hiệu lực thuốc vẫn cao nhất (94,0%) và hiệu lực của thuốc hóa học ở thời điểm sau 21 ngày xử lý không thay đổi so với thời điểm sau 14 ngày xử lý, điều này có nghĩa là sau 14 ngày xử lý thì hiệu quả của thuốc hóa học không tăng. Trong khi ở tất cả các công thức thí nghiệm sử dụng thuốc ANISAF SH01, thì hiệu lực của thuốc đã tăng rõ rệt sau 14 và 21 ngày xử lý, đặc biệt ở công thức số 4 và số 5. Ở công thức thí nghiệm sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 với nồng độ 0,7% (Công thức 4) hiệu lực của thuốc tăng nhanh từ 55,3% lên 91,3% (sau 14 ngày xử lý) và tăng lên 93,1% (sau 21 ngày xử lý). Còn ở công thức sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 với nồng độ 1% (Công thức 5) hiệu lực của thuốc tăng nhanh từ 57,6% lên 90,4% (sau 14 ngày xử lý) và tăng lên 93,8% (sau 21 ngày xử lý). Kết quả này chứng tỏ, thuốc ANISAF SH01 có hiệu lực trừ rệp sáp cao và hiệu quả của thuốc vẫn tăng sau 14 ngày xử lý. Từ các kết quả thu được, nhận thấy: thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 ở nồng độ 0,7% và 1% có hiệu lực diệt trừ rệp sáp tương đương nhau và tương đương với thuốc hóa học Movento 150 OD. Như vậy có thể sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 nồng độ 0,7%, lượng dùng là 4 lit/cây để diệt trừ rệp sáp gây hại trên cây cà phê. Như vậy thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 nồng độ 0,7% lượng dùng là 4 lít/cây có thể được sử dụng để diệt trừ rệp sáp gây hại trên cây cà phê theo hướng bền vững.

b) Đánh giá tác dụng phòng trừ bệnh vàng lá và ảnh hưởng của của thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 đối với cây cà phê kiến thiết

Đánh giá tỷ lệ cây bị vàng và tính chỉ số vàng lá tại các ô thí nghiệm sau khi xử lý thuốc ANISAF SH01, kết quả thu được cho thấy, tỷ lệ cây cà phê bị vàng lá tại các ô thí nghiệm sử dụng ANISAF SH01 có giảm so với ô đối chứng. Hiệu quả cao nhất là ô thí nghiệm sử dụng ANISAF SH01 (nồng độ 1%), tỷ lệ cây bị vàng lá giảm 1,7% so với trước khi thí nghiệm và giảm 3,0% so với đối chứng.

3.6.1.3.2. Kết quả đánh giá tác dụng của thuốc đến một số chỉ tiêu sinh trưởng, năng suất, chất lượng và đất trồng

a) Nhận xét tình hình sinh trưởng, phát triển của cây trồng trong thí nghiệm:

- Đối với cà phê kinh doanh, cấu trúc tán lá vừa phục vụ cho năng suất niên vụ hiện tại vừa tiềm năng cho năng suất năm sau. Tán lá bao gồm số cành, chiều dài cành, số mắt lá, số lá và màu sắc tán lá phản ánh sức sinh trưởng của cây và vườn cà phê. Cấu trúc tán được phản ánh qua số lượng cành thứ cấp (cấp 2 hoặc cấp 3), tăng trưởng chiều dài cành, đường kính cành là các chỉ tiêu cơ bản. Theo dõi số cặp lá mới mọc ra trên đoạn cành dài 50 cm (tính từ đỉnh sinh trưởng của cành vào thân) của 30 cây cà phê ở mỗi ô thí nghiệm nghiên cứu, mỗi cây theo dõi trên 4 cành ở 4 hướng khác nhau và các cành này có sự sinh trưởng tương đối đồng đều nhau.

- Số cặp lá mới mọc/cành ở mô hình thí nghiệm luôn cao hơn hơn mô hình đối chứng qua các tháng theo dõi. Số cặp lá mới mọc ra/cành tăng nhiều nhất vào mùa mưa từ tháng 5÷7/2018.

- Sự tăng trưởng chiều dài cành ở mô hình thí nghiệm luôn cao hơn hơn mô hình đối chứng qua các tháng theo dõi, tăng mạnh nhất từ tháng 5 đến tháng 8. Sự tăng trưởng chiều dài trung bình cành giữa mô hình TN 3 (12,89 cm/tháng) cao hơn mô hình đối chứng (11,13 cm/tháng), trong khi tại các tháng đầu tiên khi theo dõi mô hình, sự tăng trưởng chiều dài cành ở mô hình TN 3 (tăng 5,22 cm) và mô hình ĐC (tăng 5,11 cm) là tương đương nhau. Nhưng bắt đầu từ tháng 5 thì ở mô hình TN 3 có chiều dài cành tăng nhanh hơn mô hình ĐC, đặc biệt là tháng 8 và 9 thì mô hình TN 3 có sự tăng trưởng chiều dài cành khác biệt rất rõ so với mô hình ĐC. Mô hình TN 1 có sự tăng trưởng chiều dài cành trung bình thấp hơn so với các mô hình còn lại, còn mô hình TN2 có sự tăng trưởng chiều dài cành là 10,86 cm gần tương đương với mô hình ĐC. Tóm lại, đối với chỉ tiêu theo dõi là chiều dài cành của cây cà phê kinh doanh ta nhận thấy, việc sử dụng công thức tưới thuốc Anisaf-SH 01 nồng độ 0,7% với liều lượng tưới là 4 lít/gốc và tưới 5 lần/năm là công thức cho thấy sự tác động rõ ràng nhất của thuốc Anisaf-SH 01 đối với sinh trưởng chiều dài cành của cây cà phê kinh doanh.

- Số đốt/cành ở các mô hình TN 1 và TN 2 cao hơn so với số đốt/cành ở cây cà phê kinh doanh trong mô hình ĐC. Cụ thể ở mô hình TN1 số đốt/cành trung bình là 16,2

đốt/cành, TN 2 là 16,38 đốt/cành, trong khi ở mô hình TN 3 số đốt/cành trung bình là 15,79 đốt/cành tương đương với mô hình ĐC là 15,99 đốt/cành. Đối với sự tăng trưởng của số đốt/cành ở các mô hình thí nghiệm đều cao hơn mô hình đối chứng qua các tháng theo dõi. Các đốt tăng mạnh nhất từ tháng 3÷ tháng 7. Mô hình có sự tăng trưởng số đốt/cành cao nhất là mô hình TN 3 với 5,83 đốt/cành/tháng và thấp nhất là mô hình đối chứng với 5,08 đốt/cành /tháng. Trong thực tế khi quan sát các cây cà phê, nhận thấy cây cà phê của mô hình thí nghiệm có các đốt mới mọc dài hơn so với mô hình đối chứng, và mô hình thí nghiệm cũng có sự phát cành nhiều hơn so với mô hình đối chứng.

Như vậy, số liệu theo dõi ở chỉ tiêu tăng trưởng số đốt/cành đã chứng minh được việc sử dụng thuốc ANISAF SH01 nồng độ 0,7% và liều lượng tưới là 4 lít/gốc có sự ảnh hưởng tới sinh trưởng, phát triển của cây cà phê kinh doanh.

b) Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất

- Theo dõi số chùm hoa/cành và tỷ lệ đậu quả của các cây cà phê tại các mô hình nghiên cứu cho thấy: mô hình đối chứng và mô hình TN 3 có số chùm hoa/cành cao hơn mô hình TN 1 và 2. Tỷ lệ đậu quả ở các mô hình thí nghiệm cao hơn mô hình đối chứng.

- Số đốt mang quả/cành được theo dõi từ giai đoạn quả non đến quả chắc (tháng 3 đến tháng 9) và số quả/3 đốt gần thân được theo dõi ở giai đoạn quả chắc (tháng 3 đến tháng 9): Các mô hình TN có số đốt mang quả/cành cao hơn mô hình đối chứng. Đặc biệt ở giai đoạn gần thu hoạch thì ở các mô hình TN 1, TN 2 và TN 3 đều có số quả/3 đốt gần thân nhiều hơn so với mô hình đối chứng. Điều đó cho thấy năng suất thực thu của mô hình thí nghiệm sẽ có triển vọng cao hơn mô hình đối chứng.

- Năng suất thực thu của thí nghiệm 3 cao nhất đạt 3,12 tấn/ha. Kết quả này phản ánh đúng với kết quả tính năng suất theo lý thuyết. Năng suất cao thứ 2 nhưng chênh nhau không nhiều so với năng suất cao nhất là công thức TN2 đạt 3,11 tấn/ha chỉ kém thí nghiệm TN 3 có 0,01 tấn/ha. Tiếp theo công thức TN 2 đạt 3,08 tấn/ha và cuối cùng là công thức ĐC đạt 3,05 tấn/ha. Nếu so sánh năng suất cao nhất của công thức TN 3 và công thức ĐC thì công thức TN 3 nhiều hơn ĐC là 0,07 tấn/ha, vậy năng suất tăng 2,29% so với công thức ĐC. Năng suất của các công thức thí nghiệm nhìn chung cao hơn công thức ĐC.

Tóm lại là ở các mô hình có sử dụng thuốc ANISAF SH01 nồng độ 0,7% với liều lượng tưới 4 lít/gốc cùng số liệu theo dõi thu được về các yếu tố cấu thành năng suất cao hơn

hẳn so với mô hình ĐC. Các mô hình thí nghiệm có năng suất thực thu cao hơn so với mô hình đối chứng và mô hình TN2 và TN3 có năng suất gần như là tương đương nhau..

c) *Đánh giá chất lượng sản phẩm*

Các chỉ tiêu đánh giá chất lượng quả tươi và hạt khô gồm có: số quả/1kg, tỷ lệ quả lỗi, tỷ lệ quả xanh, khối lượng 100 nhân, độ ẩm sau khi phơi, tỷ lệ hạt trên các loại sàng có kích cỡ Ø18, Ø 16, Ø14, Ø 12. Kết quả thu được:

- *Chỉ tiêu đánh giá số quả/1kg*: Công thức đối chứng có số quả nhiều nhất 1108 quả/1 kg, công thức thí nghiệm TN3 có số quả ít nhất 1076 quả/1kg. Như vậy kết luận rằng quả cà phê ở công thức TN3 là to nhất so với 3 công thức còn lại, quả cà phê của mô hình đối chứng nhỏ nhất trong số 4 công thức thí nghiệm theo dõi.

- *% tỷ lệ quả lỗi*: Ở công thức TN 1 và TN 3 có tỷ lệ % quả lỗi bằng nhau và chiếm tỷ lệ ít nhất 1,2 %, tiếp đó đến công thức ĐC chiếm 1,7% và nhiều nhất là công thức TN 2 chiếm 1,8%.

Công thức ĐC chiếm nhiều nhất 0,09%, ít nhất là công thức thí nghiệm TN2 0,04%. Tỷ lệ quả xanh của công thức thí nghiệm TN1 và TN3 bằng nhau chiếm 0,06%.

- *Khối lượng 100 nhân (g)*: ở công thức đối chứng thấp nhất chiếm 12g. Công thức ĐC và công thức TN1 có kết quả gần nhau, 100 nhân của TN1 là 11,9g, như vậy chênh lệch không nhiều. Công thức TN2 có khối lượng 100 g là 12,8g; TN3 là 12,9g, vậy hai công thức TN2 và TN3 có khối lượng 100 nhân cũng chênh nhau không đáng kể. Nếu so sánh giữa công thức có khối lượng 100 nhân nặng nhất (công thức TN 3) với công thức ĐC chênh nhau 0,9g. Từ kết quả này tỷ lệ thuận với kết quả của chỉ tiêu số quả/1kg ở thí nghiệm TN3 có quả to nhất.

- *Tỷ lệ hạt trên sàng Ø18*: Công thức TN1 và TN 3 có tỷ lệ % hạt trên sàng Ø18 bằng nhau và nhiều nhất là 3,4 %, tiếp theo là công thức ĐC 3,12%, cuối cùng thấp nhất là công thức TN 2 chỉ có 3%.

- *Tỷ lệ hạt trên sàng Ø16*: Có 3 công thức có tỷ lệ hạt trên sàng Ø16 bằng nhau đó là công thức ĐC, TN 1, TN 3 và bằng 60,6%., công thức TN 2 chiếm tỷ lệ cao nhất 61,8%.

- *Tỷ lệ hạt trên sàng Ø14*: Chiếm tỷ lệ % cao nhất trên sàng Ø14 là công thức TN 3: 27,3%; sau đó cao thứ nhì là công thức TN1: 25,8%; cao thứ 3 là công thức ĐC: 24,8%; thấp nhất là công thức TN 2 chiếm 24,3%.

- Tỷ lệ hạt trên sàng Ø12: Công thức ĐC có tỷ lệ % hạt trên sàng Ø12 cao nhất là: 11,48%; TN1: 10,2%; TN2: 10,9%, công thức TN3 có tỷ lệ hạt trên sàng thấp nhất là 8,7%.

Theo công thức tính khối lượng lọt sàng để xếp hạng phân loại cà phê nhân được tính như sau:

Đối với công thức TN3: cà phê ở công thức TN3 xếp hạng 2.

Công thức đối chứng: cà phê công thức ĐC không đủ điều kiện xếp hạng 2.

Công thức TN1: cà phê công thức TN1 không đủ điều kiện xếp hạng 2.

Công thức TN2: cà phê công thức TN2 không đủ điều kiện xếp hạng 2.

Như vậy trong 4 công thức thí nghiệm theo dõi chỉ có duy nhất công thức TN3 hạt cà phê đủ tiêu chuẩn xếp hạng 2.

- *Độ ẩm sau khi phơi:* Cả 4 thí nghiệm đều cho cùng 1 kết quả về độ ẩm sau khi phơi là 10%.

d) *Đánh giá tính chất đất được cải thiện, khả năng làm tăng miễn dịch cây trồng đối với chế phẩm có chất cải tạo đất, phân bón có tác dụng làm tăng miễn dịch cho cây trồng*

- Mô hình thí nghiệm mới chỉ phun một lần thuốc BVTV hóa để trừ bệnh khô cành khô quả, trong khi đó ở mô hình đối chứng phun đã 3 lần thuốc BVTV thực vật hóa học để trừ bệnh rỉ sắt, khô cành khô quả. Các tháng mùa mưa mô hình thí nghiệm có bị sâu ăn lá nhiều hơn mô hình đối chứng. Hiện tại Mô hình thí nghiệm không bị bệnh nấm hồng, rỉ sắt, rệp sáp, vàng lá, sâu ăn lá. Mô hình Đối chứng vẫn bị bệnh khô cành khô quả.

- Trong nông nghiệp, tiêu chí phát triển bền vững đất đai đóng vai trò hết sức quan trọng. Việc lạm dụng phân hóa học làm thoái hóa nghiêm trọng đất trồng cà phê. Việc sử dụng quá nhiều thuốc BVTV hóa học làm ảnh hưởng lớn đến hệ sinh thái đất trồng cà phê. pH của đất ở các công thức TN 2 và TN 3 tăng nhẹ theo thời gian, đạt mức dao động trong khoảng 5,7- 6,2 phù hợp với cây cà phê (chua nhẹ), 2 công thức ĐC và TN 1 giảm nhẹ sau thời gian theo dõi thí nghiệm, với mức pH < 5,7 đất hơi chua đối với cây cà phê. Điều này có thể do chế độ canh tác hoặc biến đổi khí hậu đã ảnh hưởng đến pH của đất trồng cà phê. Độ ẩm của 3 công thức thí nghiệm tăng mạnh hơn so với công thức ĐC, độ ẩm thuộc loại trung bình. Kết quả phân tích số lượng VSV tổng số trong các mẫu đất trồng cà phê giai đoạn kinh doanh cho thấy ở công thức đối chứng (ĐC) VK hiếu khí tổng số (VKHK TS) và XK TS tổng số giảm dần trước và sau thí nghiệm, chỉ có nấm mốc tổng số tăng nhẹ sau

thí nghiệm. Ngược lại với công thức ĐC, các công thức tưới thuốc Anisaf-SH 01 số lượng VK hiếu khí tổng số tăng cao sau thí nghiệm so với trước thí nghiệm, tăng cao nhất TN 3 và thấp nhất TN 1. Nấm mốc tổng số (TS) ở cả 4 công thức theo dõi đều tăng sau thí nghiệm, tăng nhiều nhất là công thức TN 3, thấp nhất là công thức ĐC. Mật độ nấm mốc TS trong các mẫu đất trồng cà phê thuộc mức độ trung bình. XK TS cao trong các mẫu đất trồng cà phê giai đoạn kinh doanh tăng sau thí nghiệm đối với công thức TN 2 và TN 3, còn công thức ĐC và công thức TN 1 giảm dần sau thí nghiệm, giảm mạnh nhất ở công thức ĐC. Mật độ các loại VSV tổng số giảm dần chứng tỏ đất đang bị thoái hóa, chai cứng có thể do lạm dụng phân bón hóa học và thuốc BVTV hóa học quá mức cho phép. Kết quả đánh giá nhóm VK cố định đạm trong các mẫu đất trồng cà phê giai đoạn kinh doanh: Nhóm *Azotobacter* ở công thức đối chứng trước và sau thí nghiệm không có nhóm này. Các công thức thí nghiệm trước và sau thí nghiệm đều có nhóm này trong đất, sau thời gian sau 12 tháng sử dụng Anisaf-SH 01 số lượng VK cố định nitơ *Azotobacter* tăng hơn so với trước thí nghiệm đối với công thức TN 2 và TN 3, còn công thức TN 1 giảm nhẹ sau thí nghiệm. Nhóm *Azotobacter* thích ứng điều kiện sống lý tưởng khi pH 7,2-8,2, nhiệt độ 28-30°C, độ ẩm 40-60%. Nhiệt độ ở Tây Nguyên ôn hòa quanh năm, đảm bảo duy trì 28-30°C, nhưng theo kết quả phân tích cho thấy pH và độ ẩm hơi thấp so với điều kiện phát triển lý tưởng của nhóm VK phân giải đạm này, nên nhóm VK này ở TN 1 có giảm một chút sau thí nghiệm, 2 thí nghiệm còn lại là TN 2 và TN 3 sau thời gian tưới thuốc ANISAF SH01 độ ẩm và pH tăng lên do đó số lượng nhóm VK này tăng lên là điều dễ hiểu. Với nhóm *Azospirillum* trước khi triển khai thí nghiệm có sự tồn tại của nhóm VK này ở cả 4 mẫu đất của 4 công thức thí nghiệm được kiểm tra với số lượng thấp chỉ ở 10^2 CFU/g. Sau khi triển khai thí nghiệm số lượng nhóm VK này giảm ở mẫu ĐC, các mẫu thí nghiệm TN1, TN2, TN3 có sự tăng nhẹ từ $(0,42 - 0,8) \times 10^2$ CFU/g sau 12 tháng so với trước khi thí nghiệm, tăng nhiều nhất ở thí nghiệm TN3 tăng lên $0,8 \times 10^2$ CFU/g. Với nhóm *Acetobacter*: Trước khi triển khai thí nghiệm thấy nhóm VK này tồn tại ở cả 4 mẫu đất được kiểm tra, kết quả phân tích cho thấy số lượng nhóm VK *Acetobacter* trong các mẫu đất nói chung thấp, mật độ chỉ khoảng 10^2 CFU/g đất khô. Sau khi triển khai thí nghiệm số lượng nhóm này tăng lên cả 4 thí nghiệm, tăng cao nhất ở thí nghiệm TN3, tăng sau $1,3 \times 10^2$ sau đó đến công thức TN2 tăng $1,25 \times 10^2$, công thức ĐC cao thứ 3 và thấp nhất thí nghiệm TN1 chỉ tăng

$1,1 \times 10^2$. Nhóm VK phân giải lân có khả năng sống trong điều kiện nghèo dinh dưỡng, khi đó chúng phân giải các loại phốt phát khó tan thành nguồn P cho sinh trưởng và phát triển. Kết quả đánh giá trong các mẫu đất trồng cà phê cho thấy trước khi triển khai thí nghiệm nhóm VK này tồn tại tương đối ở cả 4 mẫu đất được kiểm tra với số lượng khoảng 10^4 CFU/g. Số lượng nhóm VSV này so với đất trồng nói chung là không thấp so với các vùng đất trồng khác. Sau thí nghiệm 12 tháng số lượng VK phân giải lân tăng cao từ $25,5 - 31,73 \times 10^4$ CFU/g ở các mẫu thí nghiệm tưới thuốc Anisaf-SH 01, tăng cao nhất ở thí nghiệm TN3 tăng $31,73 \times 10^4$, tiếp đó đến TN2 tăng $28,6 \times 10^4$ và thấp nhất ở thí nghiệm TN1 tăng $25,5 \times 10^4$ nhưng so với công thức ĐC tăng rất ít $9,93 \times 10^4$. Như vậy 3 công thức thí nghiệm tưới thuốc ANISAF SH01 tăng cao sau thí nghiệm và vượt xa công thức ĐC.

3.6.1.4. Kết quả khảo nghiệm trên cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh

3.6.1.4.1. Kết quả đánh giá hiệu lực của thuốc trên một số sâu bệnh gây hại chính

a) Đánh giá hiệu lực của thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trong việc phòng trừ rệp sáp gây hại trên cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh

Kết quả khảo nghiệm cho thấy: Ở công thức đối chứng: Mật độ rệp sáp trước khi thí nghiệm là 14.5 (con/cây) và mật độ rệp sáp ở công thức này gia tăng trong suốt thời gian thực hiện thí nghiệm và tăng cao nhất vào ngày thứ 21 của thí nghiệm (mật độ rệp sáp là 26.2 con/cây); như vậy sau 21 ngày thí nghiệm thì mật độ rệp sáp đã tăng lên 1,8 lần so với trước khi thí nghiệm. Ở công thức phun thuốc ANISAF SH01: Mật độ rệp sáp trước khi thí nghiệm là trong các công thức dao động từ 14.8 -15.6 (con/cây), mật độ rệp sáp cao nhất là ở công thức phun thuốc ANISAF SH01 nồng độ 0,7% (15.6 con/cây). Mật độ rệp sáp ở các công thức phun thuốc ANISAF SH01 giảm dần sau khi được xử lý thuốc và giảm thấp nhất là ở công thức phun thuốc ANISAF SH01 nồng độ 1% sau 21 xử lý thuốc (mật độ rệp sáp là 2.2 con/cây). Sau 21 ngày xử lý thuốc ANISAF SH01 nồng độ 0,7% và 1% thì mật độ rệp sáp đã giảm tương ứng là 5,57 và 6,9 lần so với trước khi thí nghiệm. Ở công thức phun thuốc Mospilan 3 EC: Mật độ rệp sáp trước khi thí nghiệm là 14.6 (con/cây) và mật độ rệp sáp ở công thức này giảm dần sau khi được xử lý thuốc và giảm thấp nhất là sau 21 xử lý thuốc (mật độ rệp sáp là 1.2 con/cây); như vậy sau 21 ngày xử lý thuốc thì mật độ rệp sáp đã giảm đi 8,1 lần so với trước khi thí nghiệm. Như vậy, mật độ rệp sáp sau 21 ngày xử lý thuốc ở các công thức ANISAF SH01 (nồng độ 0,7 và 1%) và Mospilan 3 EC đều giảm so với trước xử

lý thuốc và giảm tốt nhất ở công thức phun thuốc hóa học Mospilan 3 EC; còn ở công thức Đối chứng mật độ rệp sáp sau ngày thứ 21 của thí nghiệm tăng hơn gần gấp đôi so với thời điểm trước thí nghiệm.

Hiệu lực diệt trừ rệp sáp hại hồ tiêu của thuốc Anisaf SH – 01 bắt đầu có hiệu lực sau 14 ngày phun, tức là sau lần phun thứ 2 và hiệu lực đạt cao nhất là 69.92% ở công thức phun thuốc ANISAF SH01 nồng độ 1%. Hiệu lực của thuốc Anisaf SH - 01 kéo dài đến ngày thứ 21 của thí nghiệm và đạt khá cao ở nồng độ 0,7% và 1%, hiệu lực tương ứng là: 90.10% và 91.99%. Điều này cho thấy, sau 21 ngày xử lý thì hiệu lực của thuốc đã tăng lên 24,45% (tại nồng độ 0.7%) và 22,36% (tại nồng độ 1%) so với sau 14 ngày xử lý. Ở công thức dùng thuốc hóa học thì hiệu lực thuốc vẫn là cao nhất (93,18%) và hiệu lực của thuốc hóa học ở thời điểm sau 21 ngày xử lý tăng 10,46% so với thời điểm sau 14 ngày xử lý, điều này có nghĩa là sau 21 ngày xử lý thì hiệu quả của thuốc hóa học có tăng nhưng tăng chậm hơn so với thuốc ANISAF SH01. Như vậy thuốc thảo mộc ANISAF SH01 có hiệu lực diệt trừ rệp sáp hại hồ tiêu ở mức độ khác cao có thể áp dụng vào quá trình canh tác cây hồ tiêu ở Tây Nguyên theo hướng phát triển bền vững.

b) Đánh giá khả năng chống vàng lá và ảnh hưởng đối với cây trồng ở các ngày sau xử lý thuốc của thuốc ANISAF SH01

Đánh giá tỷ lệ cây bị vàng và tính chỉ số vàng lá tại các ô thí nghiệm sau khi xử lý thuốc Anisaf SH 01, kết quả cho thấy, tại các ô thí nghiệm tỷ lệ cây tiêu bị vàng lá tại các ô thí nghiệm đều giảm, trong khi các ô đối chứng có tỷ lệ cây bị vàng lá tăng hơn 0,7 % so với trước khi thí nghiệm. Hiệu quả cao nhất là ô thí nghiệm sử dụng ANISAF SH01 (nồng độ 1%), tỷ lệ cây bị vàng lá giảm 1,4% so với trước khi thí nghiệm.

Qua theo dõi ảnh hưởng của thuốc đối với cây trồng ở các ngày sau xử lý thuốc cho thấy, thuốc ANISAF SH01 sử dụng với các liều lượng và nồng độ khác nhau trong thí nghiệm đều không ảnh hưởng đến cây tiêu các cấp độ gây hại đều bằng 0, cây tiêu không có biểu hiện nào bất thường so với ô đối chứng. Đối với lô thí nghiệm sử dụng thuốc thảo mộc ANISAF SH01 ở các nồng độ khác nhau đều cho thấy cây hồ tiêu phát sinh cành tốt hơn, lá xanh bóng hơn so với ô thí nghiệm đối chứng.

3.6.1.4.2. Kết quả đánh giá tác dụng của thuốc đến một số chỉ tiêu sinh trưởng, năng suất, chất lượng và đất trồng

a) *Nhận xét tình hình sinh trưởng, phát triển của cây trồng trong thí nghiệm:*

- Qua nghiên cứu các mô hình thí nghiệm các chế phẩm sinh học lên cây hồ tiêu tại huyện CưKuin, tỉnh Đắk Lắk cho thấy ở mô hình thí nghiệm cây hồ tiêu có lá xanh, dày và bóng mượt hơn các mô hình đối chứng trong mọi thời điểm sinh trưởng, phát triển của cây. Điều đó được thể hiện ở các yếu tố cấu thành năng suất của cây hồ tiêu thí nghiệm.

- Sự tăng trưởng chiều dài cành của cây hồ tiêu ở mô hình thí nghiệm luôn cao hơn mô hình đối chứng 1 và mô hình đối chứng 2 qua các tháng theo dõi. Sự tăng trưởng chiều dài cành và số lá/cành chậm dần vào các tháng cuối năm. Sau 9 tháng theo dõi, chiều dài cành hồ tiêu ở TN 3 tăng thêm 6,52 cm là cao nhất, sau đó là TN2 5,99 và thấp nhất là TN1 tăng 5,76cm, còn đối chứng tăng 4,97cm.

- Số lá/cành của cây hồ tiêu ở mô hình thí nghiệm luôn cao hơn các mô hình đối chứng qua các tháng theo dõi.

- Số lá/cành của cây hồ tiêu ở các mô hình thí nghiệm luôn cao hơn mô hình đối chứng qua các tháng theo dõi.

b) *Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất:*

- Chiều dài chùm hoa ở các thí nghiệm đều cao hơn so với đối chứng. Trong đó TN1 là thí nghiệm có chiều trung bình cao nhất (1,89cm), còn ĐC chỉ tăng chiều dài chùm hoa có 1,81cm.

- Số chùm quả/cành của cây hồ tiêu ở các mô hình tăng không đáng kể. Mô hình TN1 có số chùm quả/cành tăng cao nhất (0,82 chùm/cành), sau đó là mô hình TN3 (0,68 chùm/cành), tiếp theo là mô hình TN2 (0,55 chùm/cành) và thấp nhất là mô hình đối chứng (0,29 chùm/cành).

- Sự tăng trưởng của chiều dài chùm quả lại cao nhất ở mô hình TN3 (2,16 cm), sau đó lần lượt là TN2 (1,49 cm), TN1 (1,27 cm) và cuối cùng là mô hình đối chứng (1,790 cm).

- Năng suất thực thu của các mô hình nghiên cứu năm 2018 và 2019 được trình bày ở trên cho thấy, năng suất của mô hình TN3 (đạt 6,15 tấn/ha) cao hơn các mô hình thí nghiệm còn lại và đối chứng. Tuy nhiên tỷ lệ khối lượng quả khô so với quả tươi đều ở các mô hình thí nghiệm thấp hơn mô hình đối chứng.

c) *Đánh giá chất lượng sản phẩm:*

- Khối lượng khô tuyệt đối của các mẫu Hồ tiêu: Mẫu hồ tiêu thu được từ các công thức thí nghiệm có khối lượng khô tuyệt đối thấp hơn so với mẫu hồ tiêu thu được từ công thức ĐC, thấp nhất là công thức TN3 chiếm 38%, tiếp theo công thức TN2, xếp thứ 3 là công thức TN1 và thấp nhất là công thức ĐC chiếm tỷ lệ cao nhất 45%. Như vậy hạt hồ tiêu ở công thức TN3 có hàm lượng nước trong hạt tươi thấp nhất, thấp hơn so với hạt hồ tiêu của 03 công thức còn lại.

- Một số chỉ tiêu vật lý của hạt tiêu đen ở các công thức theo dõi: Tạp chất lạ cả 4 công thức thí nghiệm bằng nhau, chiếm 1 tỷ lệ rất nhỏ $0,1\% < 0,2\%$ nên tất cả hạt tiêu ở 4 công thức đủ tiêu chuẩn xếp hạng đặc biệt. Hạt lép: Công thức ĐC chiếm tỷ lệ cao nhất 5,5%, thấp nhất công thức TN3 chiếm 4,5%, như vậy chỉ tiêu hạt lép cả 4 công thức nằm trong khoảng $2\% < 5,5\% - 4,5\% < 6\%$, vậy cả 4 công thức theo dõi đủ tiêu chuẩn xếp hạng 1. Hạt đầu đỉnh hoặc hạt vỡ ở công thức ĐC cao nhất chiếm 2,2%, sau đó đến công thức TN1 chiếm 2,1% và 2 công thức TN2 và TN3 có kết quả bằng nhau chiếm 2%. Với kết quả này khi xét riêng chỉ tiêu hạt đầu đỉnh hoặc hạt vỡ công thức TN2 và TN3 $\leq 2\%$ nên đủ tiêu chuẩn xếp hạng đặc biệt hoặc hạng 1. Còn $2\% <$ công thức ĐC và TN1 $< 4\%$ nên đủ tiêu chuẩn xếp hạng 2. Khối lượng theo thể tích: Thấp nhất là công thức ĐC đạt 510 g/l, cao nhất công thức TN3 đạt 550 g/l. Như vậy kết quả cả 4 công thức theo dõi nằm trong khoảng < 600 g/l và ≥ 550 g/l nên tất cả đủ điều kiện xếp hạng 1. Như vậy, công thức ĐC và TN1 xếp hạng 2 khi xét cả 4 chỉ tiêu vật lý. Công thức TN2 và TN3 xếp hạng 1 khi xét cả 4 chỉ tiêu vật lý

- Một số chỉ tiêu hóa học của hạt tiêu đen ở các công thức theo dõi: Độ ẩm của hạt tiêu đen ở các công thức theo dõi là tương đương nhau, có sự chênh lệch không đáng kể. Hàm lượng tro tổng số: ở công thức TN3 là nhỏ nhất chiếm 3,64%, lớn nhất là công thức ĐC và TN1 có tỷ lệ bằng nhau 3,95%. Cả 4 công thức thí nghiệm có sự chênh lệch về tỷ lệ hàm lượng tro tổng số không nhiều, đều đạt tiêu chuẩn $< 7,0\%$ theo quy định đối với hạt tiêu đen qua sơ chế. Hàm lượng xơ, thô: Chất xơ, thô có ý nghĩa rất quan trọng trong dinh dưỡng như: chống táo bón, ngừa ung thư, bớt viêm ruột, trị béo phì, bệnh tim mạch, chữa tiểu đường, Trong 4 công thức thí nghiệm công thức TN3 có tỷ lệ chất xơ, thô cao nhất chiếm 7,15%, thấp nhất công thức đối chứng tỷ lệ chất xơ, thô 6,38%, sự chênh lệch giữa công thức cao nhất và thấp nhất là 0,77%. Theo quy định đối với hạt tiêu đen qua sơ chế về

hàm lượng xơ, thô $\geq 4,0\%$, như vậy cả 4 công thức thí nghiệm có hàm lượng xơ thô đều đạt yêu cầu. Hàm lượng piperin: Piperin và chanvixin là hai loại ankaloit có vị cay hắc làm cho tiêu có vị cay. Trong 4 công thức theo dõi công thức TN3 có hàm lượng piperin cao nhất chiếm 6,36%, tiếp theo đến công thức TN2 chiếm 5,58%, xếp thứ 3 là công thức TN1 chiếm 5,38% và thấp nhất là công thức ĐC chiếm 5,17%. Như vậy sự chênh lệch giữa công thức cao nhất và thấp nhất là 1,19%. Theo TCVN 7038-2002, quy định hàm lượng piperin của mẫu hồ tiêu $\geq 4\%$, các kết quả thu được cũng cho thấy các mẫu hồ tiêu thu được từ các công thức thí nghiệm và công thức ĐC có hàm lượng piperin đều đạt yêu cầu. Trong 4 chỉ tiêu hóa học của hạt hồ tiêu đen đã qua sơ chế được phân tích thì công thức TN3 có giá trị tốt nhất so với 3 công thức còn lại.

d) *Đánh giá tính chất đất được cải thiện, khả năng làm tăng miễn dịch cây trồng đối với chế phẩm có chất cải tạo đất, phân bón có tác dụng làm tăng miễn dịch cho cây trồng:*

+ Tình hình sâu bệnh ở mô hình thí nghiệm cũng giảm hẳn so với các mô hình đối chứng. Cho đến thời điểm kết thúc thí nghiệm ở các mô hình thí nghiệm không bị bệnh, rệp sáp vàng lá, sâu ăn lá và số cây bị chết không có so với đối chứng.

+ Trong nông nghiệp, tiêu chí phát triển bền vững đất đai đóng vai trò hết sức quan trọng. Việc lạm dụng phân hóa học làm thoái hóa nghiêm trọng đất trồng hồ tiêu. Việc sử dụng quá nhiều thuốc BVTV hóa học làm ảnh hưởng lớn đến hệ sinh thái đất trồng hồ tiêu. Đánh giá ảnh hưởng của thuốc ANISAF SH01 đến đất trồng hồ tiêu cho thấy:

- pH thích hợp của đất trồng hồ tiêu nằm trong khoảng từ 5,5 - 6,5. Trước khi triển khai thí nghiệm có 3 công thức có pH thấp hơn một chút so với điều kiện thích hợp để hồ tiêu phát triển tốt đó là công thức ĐC, TN1 và TN3, sau thời gian 12 tháng thí nghiệm cả 4 công thức đều có pH đạt yêu cầu, như vậy pH sau thí nghiệm đã tăng nhẹ so với trước thí nghiệm, tăng mạnh nhất là công thức TN3 tăng 0,2; thấp nhất 2 công thức ĐC và TN2 tăng 0,1.

- Độ ẩm các công thức theo dõi thuộc loại trung bình. So sánh độ ẩm trước thí nghiệm và sau thí nghiệm cho thấy ở công thức ĐC và TN1 sau thí nghiệm độ ẩm giảm, giảm mạnh nhất ở công thức ĐC tới 2%, còn công thức TN giảm không đáng kể chỉ 0,3%. Công thức TN2 và TN3 độ ẩm tăng sau thí nghiệm, tăng mạnh nhất là công thức TN3 tăng 2,5% còn công thức TN2 tăng 2,3%.

- VSV sống trong đất: (1) *VK hiếu khí tổng số (VKHK TS)*: Nhìn chung cả 4 công thức thí nghiệm đều tăng, ở công thức đối chứng (ĐC) trước và sau thí nghiệm tăng không đáng kể, chỉ tăng $0,05 \times 10^6$, trong khi đó công thức TN3 tăng nhiều nhất sau và trước phản ứng tăng $3,49 \times 10^6$, tăng cao thứ 2 là công thức TN2 và thứ 3 là công thức TN1. (2) *Nấm mốc tổng số*: Cả 4 công thức thí nghiệm đều tăng sau thời gian theo dõi thí nghiệm 12 tháng, tăng thấp nhất là công thức ĐC tăng $0,2 \times 10^4$, tiếp theo là công thức TN2 tăng $0,65 \times 10^4$, tăng cao thứ 2 là công thức TN1 tăng $0,75 \times 10^4$, như vậy giữa công thức TN1 và TN2 có sự chênh lệch tăng không nhiều. Tăng nhiều nhất là công thức TN3 tăng $0,96 \times 10^4$. (3) *XK tổng số (XKTS)*: Trong 4 công thức theo dõi có 2 công thức ĐC và TN1 XK tổng số giảm sau thời gian theo dõi 12 tháng, công thức TN1 giảm mạnh nhất sau thí nghiệm giảm $0,4 \times 10^5$ (từ $1,85 \times 10^5$ xuống còn $1,45 \times 10^5$), công thức ĐC giảm $0,16 \times 10^5$ (từ $2,28 \times 10^5$ xuống còn $2,12 \times 10^5$). Công thức TN2 và TN3 tăng sau thí nghiệm, nhìn chung cả 2 công thức có sự tăng XK tổng số gần như nhau, công thức TN2 tăng $0,73 \times 10^5$ (từ $2,18 \times 10^5$ tăng lên $2,91 \times 10^5$), công thức TN3 tăng $0,8 \times 10^5$ (từ $2,2 \times 10^5$ tăng lên $3,0 \times 10^5$). (4) Nhóm *Azotobacter*: công thức đối chứng trước và sau thí nghiệm không có nhóm này. Công thức thí nghiệm TN1, TN2 và TN3 trước thí nghiệm không có nhóm này trong đất, sau thời gian sau 12 tháng sử dụng Anisaf-SH 01 số lượng VK cố định nitơ *Azotobacter* đã xuất hiện trong đất nhưng số lượng không nhiều. Bởi vì nhóm *Azotobacter* thích ứng điều kiện sống lý tưởng khi pH 7,2 - 8,2, nhiệt độ 28-30°C, độ ẩm 40-60%. Nhiệt độ ở Tây Nguyên ôn hòa quanh năm, đảm bảo duy trì 28-30°C, nhưng theo kết quả phân tích cho thấy pH và độ ẩm hơi thấp so với điều kiện phát triển lý tưởng của nhóm VK phân giải đạm này, nên nhóm VK này ở các công thức thí nghiệm mật độ hơi nghèo nàn nhưng là kết quả khả quan so với trước khi thí nghiệm trong đất không có nhóm này. (5) Với nhóm *Azospirillum*: trước khi triển khai thí nghiệm có sự tồn tại của nhóm VK này ở cả 4 mẫu đất của 4 công thức thí nghiệm được kiểm tra với số lượng thấp chỉ ở 10^2 CFU/g. Sau khi triển khai thí nghiệm số lượng nhóm VK này giảm tăng cả 4 công thức, sự tăng nhẹ từ $(0,16 - 1,1) \times 10^2$ CFU/g sau 12 tháng so với trước khi thí nghiệm, tăng nhiều nhất ở thí nghiệm TN3 tăng lên $1,1 \times 10^2$ CFU/g, tăng thấp nhất ở công thức TN1 $0,16 \times 10^2$ CFU/g. (5) Nhóm *Acetobacter*: Trong công thức ĐC và công thức TN1 trước và sau thí nghiệm không có nhóm này, công thức ở công thức TN2 và TN3 có nhóm này trong đất, nói chung mật độ thấp chỉ ở mức 10^2 CFU/g

đất khô, sau thời gian thí nghiệm 12 tháng nhóm này ở công thức TN3 tăng nhiều nhất $1,4 \times 10^2$ CFU/g (từ $0,75 \times 10^2$ lên $2,15 \times 10^2$), công thức TN2 tăng $1,18 \times 10^2$ CFU/g (từ $0,32 \times 10^2$ lên $1,5 \times 10^2$). (6) *Nhóm VK phân giải lân* có khả năng sống trong điều kiện nghèo dinh dưỡng, khi đó chúng phân giải các loại phốt phát khó tan thành nguồn P cho sinh trưởng và phát triển. Kết quả đánh giá trong các mẫu đất trồng cà phê cho thấy trước khi triển khai thí nghiệm nhóm VK này tồn tại tương đối ở cả 4 mẫu đất được kiểm tra với số lượng khoảng 10^5 CFU/g. Số lượng nhóm VSV này so với đất trồng nói chung là không thấp so với các vùng đất trồng khác. Sau thí nghiệm 12 tháng số lượng VK phân giải lân tăng cả 4 công thức thí nghiệm từ $0,05 - 0,97 \times 10^5$ CFU/g. Ở các mẫu thí nghiệm tưới thuốc Anisaf-SH 01, mật độ nhóm VK này tăng cao hơn so với công thức ĐC, tăng cao nhất ở thí nghiệm TN3 tăng $0,97 \times 10^5$, tiếp đó đến TN2 tăng $0,45 \times 10^5$ và thấp nhất ở thí nghiệm TN1 tăng $0,3 \times 10^5$ nhưng so với công thức ĐC tăng rất ít $0,05 \times 10^5$.

3.6.1.5. Nhận xét tình hình phát sinh, phát triển, sâu bệnh, khả năng chống chịu của cây trồng trong thời gian khảo nghiệm

- Vườn cà phê kiến thiết: Các thông qua các chỉ tiêu theo dõi: Chiều dài cành, số đốt/cành, số chùm hoa/cành, tỷ lệ đầu quả, số đốt mang quả/cành và số quả/3 đốt gần thân cho thấy công thức TN3 tưới thuốc ANISAF SH01 nồng độ 0,7%, liều lượng 2,5 lít/gốc với 5 lần tưới/năm là công thức ảnh hưởng rõ ràng nhất đến cây cà phê kiến thiết. Ở công thức TN 3 nhận thấy cây cà phê có sự sinh trưởng phát triển khác biệt hẳn so với công thức đối chứng, như có màu sắc lá xanh đậm hơn, lá bóng, mượt hơn và kích cỡ lá to hơn hẳn các cây ở ô đối chứng; độ phân cành mạnh hơn so với ô đối chứng, các cành mập, khỏe và đều hơn. Năng suất thực thu ở công thức TN3 cao nhất đạt 2,92 tấn/ha, cao hơn 16,5% so với công thức ĐC đạt 2,5 tấn/ha. Chất lượng quả và hạt cà phê ở công thức TN3 đạt kết quả tốt nhất, chỉ duy nhất cà phê ở công thức TN3 được xếp hạng 2 còn các công thức còn lại không đạt tiêu chuẩn xếp hạng 2. Tỷ lệ quả lỗi, quả xanh ở công thức TN3 thấp nhất so với 3 công thức còn lại, quả cà phê ở công thức TN3 to nhất so với các công thức theo dõi thí nghiệm. Độ ẩm sau khi phơi cả 4 thí nghiệm như nhau. Đất trồng ở công thức ĐC có pH giảm nhẹ, các công thức thí nghiệm tăng nhẹ, đất thuộc loại đất chua phèn. Độ ẩm thuộc loại trung bình có tăng nhẹ sau thí nghiệm. Mật độ VSV hữu ích tăng ở công thức thí nghiệm. Do đó, khuyến cáo nên sử dụng công thức thí nghiệm vào thực tế sản xuất cà phê ở khu vực nghiên cứu nói riêng

và các tỉnh Tây Nguyên nói chung.

- Vườn cà phê giai đoạn kinh doanh: Sử dụng thuốc trừ sâu ANISAF SH01 nồng độ 0,7%, liều lượng tưới 4 lít/gốc cho cây cà phê kinh doanh đã có tác đến các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển của cây như: Công thức tưới thuốc ANISAF SH01 ở mô hình TN3 có số cặp lá mới mọc ra, có số đốt mang quả/cành và số quả/3 đốt gần thân cao hơn so với công thức đối chứng. Cây cà phê có sự sinh trưởng phát triển khác biệt hẳn so với công thức đối chứng về: màu sắc lá xanh đậm hơn, lá bóng, mượt hơn và kích cỡ lá to hơn hẳn các cây ở ô đối chứng; độ phân cành mạnh hơn so với ô đối chứng, các cành mập, khỏe và đều hơn. Năng suất lý thuyết và năng suất thực thu cao hơn so với mô hình đối chứng từ 0,03 tấn/ha – 0,07 tấn/ha. Chất lượng quả và hạt cà phê đạt kết quả tốt nhất, chỉ duy nhất cà phê ở công thức TN3 được xếp hạng 2 còn các công thức còn lại không đạt tiêu chuẩn xếp hạng 2. Tỷ lệ quả lỗi thấp nhất so với 3 công thức còn lại, quả cà to nhất so với các công thức theo dõi thí nghiệm. Đất trồng ở công thức ĐC có pH giảm nhẹ, các công thức thí nghiệm tăng nhẹ, đất thuộc loại đất chua phèn. Độ ẩm thuộc loại trung bình có tăng nhẹ sau thí nghiệm. Mật độ VSV hữu ích tăng ở công thức thí nghiệm. Do đó, khuyến cáo nên sử dụng công thức thí nghiệm vào thực tế sản xuất cà phê ở khu vực nghiên cứu nói riêng và các tỉnh Tây Nguyên nói chung

- Vườn hồ tiêu: Về cảm quan thì cây hồ tiêu khi được phun thuốc ANISAF SH01 có màu sắc lá xanh thẫm hơn, mỡ màng hơn, bóng hơn so với cây không được tưới thuốc ANISAF SH01 . Việc phun thuốc BVTV sinh học ANISAF SH01 phòng chống sâu bệnh cho cây trồng làm cho môi trường sinh thái đồng ruộng được cải thiện nhờ hệ VSV đất ở các mô hình thí nghiệm tăng lên nhờ giảm thiểu việc sử dụng thuốc BVTV hóa học và phân bón hóa học.

Khảo nghiệm thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 cho vườn cà phê và hồ tiêu cho kết quả:

- Đã cải thiện thành phần dinh dưỡng đất, tăng các chỉ tiêu lân dễ tiêu và kali dễ tiêu.
- Thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 có hiệu lực diệt trừ rệp sáp gây hại cà phê và hồ tiêu cao, đạt hơn 90% sau 21 ngày xử lý. Ngoài ra, thuốc có hiệu lực phòng trừ bệnh *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., tuyến trùng *Pratlenchus coffeae* và *Meloidogyne* sp. gây bệnh chết nhanh, chết chậm ở mức độ trung bình trên cây cà phê và hồ tiêu.

- Tăng kích thích sinh trưởng cây cà phê và hồ tiêu, tăng năng suất cây trồng, nâng cao chất lượng nông sản. Sản phẩm đạt tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm.

Đất được cải tạo về mặt vật lý (tăng nhẹ pH, tăng độ ẩm...), sinh học đất (tăng mật độ VSV có lợi (VSV phân giải lân, VSV cố định đạm).

Việc phun thuốc BVTV sinh học ANISAF SH01 phòng chống sâu bệnh cho cây trồng làm cho môi trường sinh thái đồng ruộng được cải thiện nhờ hệ VSV đất ở các mô hình thí nghiệm tăng lên nhờ giảm thiểu việc sử dụng thuốc BVTV hóa học và phân bón hóa học.

3.6.2. Đề xuất quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trên cây cà phê và hồ tiêu

Từ kết quả khảo nghiệm trên cây cà phê và hồ tiêu đề xuất quy trình sử dụng thuốc ANISAF SH01 như sau:

3.6.2.1. Quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trong trừ dịch hại cho cây cà phê

1. Nồng độ sử dụng của thuốc ANISAF SH01

a) Trong phương pháp 1: Sử dụng để diệt trừ sâu hại cà phê

- Đối với cây cà phê ở giai đoạn kiến thiết (1- 3 năm tuổi): nồng độ sử dụng là 0,7% và lượng sử dụng là 2,5 lít/cây cà phê.

- Đối với cây cà phê ở giai đoạn kinh doanh (> 3 năm tuổi): nồng độ sử dụng là 0,7% và lượng sử dụng là 4 lít/cây cà phê.

- Thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 được sử dụng để diệt trừ rệp sáp giả hại cà phê. Khi mật độ gây hại của rệp sáp > 5-7 con/chùm quả/gốc thì bắt đầu sử dụng thuốc với nồng độ 0,7%.

- Cách pha thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 nồng độ 0,7%: lấy 700 ml thuốc ANISAF SH01 pha với 99,3 lít nước được 100 lít thuốc ANISAF SH01 nồng độ 0,7%. Phun trực tiếp vào cành, lá, chùm quả và gốc cây cà phê đang bị bệnh. Sau 7 ngày tiếp tục phun lần 2 và tùy theo mức độ bị bệnh của cây mà có thể tiếp tục phun lần 3 và lần 4, mỗi lần cách nhau 7 ngày.

b) Trong phương pháp 2: Sử dụng để phòng trừ dịch hại cà phê

- Sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 nồng độ 0,5% - 0,7% theo phương pháp tưới gốc kết hợp với phun cành lá cây cà phê để phòng trừ dịch hại cho cây cà phê.

- Tưới gốc kết hợp với phun cành lá cho cây cà phê, với lượng khoảng từ 2,5 lít thuốc cho cây cà phê giai đoạn kiến thiết và 4 lít thuốc cho cây cà phê giai đoạn kinh doanh. Tùy theo từng năm mà số lần tưới thuốc sẽ khác nhau, năm đầu tiên mới sử dụng cần tưới nhiều hơn (5 lần), càng về sau càng giảm dần: năm thứ 2 sẽ tưới thuốc ít hơn năm đầu từ 1-2 lần và từ năm thứ 3 trở đi tưới duy trì 2 lần/năm.

Số lượng thuốc sử dụng cho 1ha cà phê của từng năm trong mô hình canh tác cà phê theo hướng bền vững cụ thể như trong bảng 3.5.1 và bảng 3.5.2.

- Đối với cây cà phê kiến thiết: cây cà phê có 1-3 năm tuổi, lượng thuốc sử dụng là 2,5 lít/cây.

Bảng 3.5.1. Quy trình sử dụng thuốc ANISAF SH01 cho cà phê thời kỳ kiến thiết

Thời gian tác động	Nguyên vật liệu	Lượng tưới năm thứ nhất (lít/ha)	Lượng tưới năm thứ hai (lít/ha)	Tưới duy trì hàng năm (lít/ha)
Tháng 1	ANISAF SH01 (lít)	15 – 21	15	15
Tháng 3	ANISAF SH01 (lít)	15 – 21		
Tháng 6	ANISAF SH01 (lít)	15 – 21	15	
Tháng 8	ANISAF SH01 (lít)	15 – 21	15	15
Tháng 11	ANISAF SH01 (lít)	15 – 21		
Tổng cộng	ANISAF SH01 (lít)	75 – 105	45	30

- Đối với cây cà phê thời kỳ kinh doanh: cây cà phê >3 năm tuổi, lượng thuốc sử dụng là 4 lít/cây.

Bảng 3.5.2. Quy trình sử dụng thuốc ANISAF SH01 cho cà phê thời kỳ kinh doanh

Thời gian tác động	Nguyên vật liệu	Lượng tưới năm thứ 1 (lít/ha)	Lượng tưới năm thứ 2 (lít/ha)	Tưới duy trì hàng năm (lít/ha)
Tháng 1	ANISAF SH01 (lít)	24 - 33,6	24	24
Tháng 3	ANISAF SH01 (lít)	24 - 33,6		
Tháng 6	ANISAF SH01 (lít)	24 - 33,6	24	
Tháng 8	ANISAF SH01 (lít)	24 - 33,6	24	24
Tháng 11	ANISAF SH01 (lít)	24 - 33,6		
Tổng cộng	ANISAF SH01 (lít)	120 - 168	72	48

2. Thời điểm sử dụng

- Sử dụng thuốc trong tháng 1, 3 và tháng 6: để phòng và trị rệp sáp (rệp sáp thường gây hại chủ yếu trong mùa khô, cụ thể từ tháng 1-6), mọt đục cành (thường gây hại vào các tháng trong mùa khô), sâu đục thân (thường gây hại vào tháng 1-2 và tháng 4-5). Chú ý

trong thời cây đang phân hóa mầm hoa không nên sử dụng thuốc, chỉ bắt đầu sử dụng thuốc khi cây đã đậu hoa xong.

- Sử dụng thuốc trong tháng 6 và 8: phòng trừ rệp sáp gây hại (do tháng 6-8 là giai đoạn nắng mưa xen kẽ nên là thời điểm rệp sáp dễ gây hại). Sử dụng thuốc trong tháng 8 còn có tác dụng kích thích sự phát triển của các cành dự trữ.

3. Phương pháp kỹ thuật tưới, phun thuốc trừ sâu ANISAF SH01

- Phòng sâu bệnh cho cây cà phê bằng cách tưới gốc kết hợp với phun vào cành lá của cây cà phê.

- Kỹ thuật tưới gốc: Làm sạch cỏ quanh phần gốc cây, cắt bỏ các cành sát mặt đất, khi tưới thuốc đảm bảo thuốc được ngấm trực tiếp xuống đất nơi có rễ cây, giúp cây có thể hút được thuốc. Lượng thuốc sử dụng tưới tùy theo độ lớn của cây, nhưng phải đảm bảo tưới đẫm thuốc vào vùng quanh gốc cây.

- Kỹ thuật phun: Phun ướt 2 mặt lá, phun đều toàn cây, cần phun đẫm dung dịch thuốc vào tán cây cà phê.

- Tưới và phun thuốc vào lúc râm mát. Không tưới thuốc vào lúc trời mưa hay quá nắng để đảm bảo cây hút thuốc được tốt nhất và tránh thuốc bị rửa trôi.

- Không pha thuốc với các loại thuốc khác.

- Nếu gần thời gian tưới thuốc có kế hoạch bón phân thì nên tưới thuốc trước khi bón phân khoảng 5 ngày.

- Có thể kết hợp tưới thuốc cùng với các đợt tưới nước định kỳ cho cây cà phê để tiết kiệm chi phí nhân công.

- Cần bảo quản thuốc trừ sâu ở trên cao, vặn kỹ nắp, tránh ở tầm tay trẻ em. Đặc biệt tuyệt đối không tách chiết thuốc trừ sâu sang các chai lọ khác để gây nhầm lẫn, người khác có thể uống nhầm. Đối với các vỏ chai lọ thuốc trừ sâu đã sử dụng cần phải cho vào thùng rác theo đúng qui định.

3.6.2.2. Quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trong trừ dịch hại cho cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh

1. Nông độ sử dụng của thuốc ANISAF SH01

a. Trong phương pháp 1: Sử dụng để diệt trừ sâu hại hồ tiêu

- Đối với cây hồ tiêu ở giai đoạn kinh doanh (> 3 năm tuổi): nồng độ sử dụng là 0,7% và lượng sử dụng là 4 lít/trụ hồ tiêu.

- Thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 được sử dụng để diệt trừ rệp sáp hại hồ tiêu. Khi mật độ gây hại của rệp sáp > 5-7con/chùm quả/gốc thì bắt đầu sử dụng thuốc với nồng độ 0,7%.

- Cách pha thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 nồng độ 0,7%: lấy 700 ml thuốc ANISAF SH01 pha với 99,3 lít nước được 100 lít thuốc ANISAF SH01 nồng độ 0,7%. Phun trực tiếp vào cành, lá, chùm quả và gốc cây hồ tiêu đang bị bệnh. Sau 7 ngày tiếp tục phun lần 2 và tùy theo mức độ bị bệnh của cây mà có thể tiếp tục phun lần 3 và lần 4, mỗi lần cách nhau 7 ngày.

b. Trong phương pháp 2: Sử dụng để phòng trừ dịch hại hồ tiêu

- Đối với cây hồ tiêu ở giai đoạn kinh doanh (> 3 năm tuổi): nồng độ sử dụng là 0,5% - 0,7% và lượng sử dụng là 2,5 lít/ trụ hồ tiêu.

2. Liều lượng sử dụng

- Sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 nồng độ từ 0,5% - 0,7% theo phương pháp tưới gốc kết hợp với phun cành lá để phòng trừ dịch hại trên cây hồ tiêu.

- Tưới gốc kết hợp với phun cành lá cho cây hồ tiêu với lượng là 2,5 lít /1 trụ hồ tiêu kinh doanh. Lượng thuốc sử dụng sẽ khác nhau theo các năm, năm đầu tiên mới sử dụng cần tưới nhiều hơn (5 lần tưới), càng về sau càng giảm dần: năm thứ 2 sẽ tưới thuốc ít hơn năm đầu từ 1-2 lần và từ năm thứ 3 trở đi tưới duy trì 2 lần/năm.

- Số lượng thuốc sử dụng cho 1 ha hồ tiêu của từng năm trong mô hình canh tác hồ tiêu theo hướng bền vững cụ thể như trong bảng 3.5.3.

3. Thời điểm sử dụng:

- Sử dụng thuốc trong tháng 2 và tháng 6: để phòng và trị rệp sáp (rệp sáp thường gây hại chủ yếu trong mùa khô), bọ xít lưới, tuyến trùng, rầy xanh.... Chú ý trong thời cây đang phân hóa mầm hoa không nên sử dụng thuốc, chỉ bắt đầu sử dụng thuốc khi cây đã đậu hoa xong.

- Sử dụng thuốc trong tháng 8, 10 và 12: phòng trừ rệp sáp gây hại (do tháng 8 là giai đoạn nắng mưa xen kẽ nên là thời điểm rệp sáp dễ gây hại). Sử dụng thuốc trong tháng 8 còn có tác dụng kích thích sự phát triển của các cành dự trữ.

Bảng 3.5.3. Quy trình sử dụng thuốc ANISAF SH01 cho hồ tiêu thời kỳ kinh doanh

Thời gian tác động	Nguyên vật liệu	Lượng tưới năm thứ 1 (lít/ha)	Lượng tưới năm thứ 2 (lít/ha)	Tưới duy trì hàng năm (lít/ha)
Tháng 2	ANISAF SH01 (lít)	20-28	20	20
Tháng 6	ANISAF SH01 (lít)	20-28		
Tháng 8	ANISAF SH01 (lít)	20-28	20	
Tháng 10	ANISAF SH01 (lít)	20-28	20	20
Tháng 12	ANISAF SH01 (lít)	20-28		
Tổng cộng	ANISAF SH01 (lít)	100 - 140	60	40

4. Phương pháp kỹ thuật tưới, phun thuốc trừ sâu ANISAF SH01

- Phòng trừ dịch hại cho cây hồ tiêu bằng cách tưới gốc kết hợp với phun vào cành lá của cây. Thường xuyên kiểm tra vườn để kịp thời phát hiện và có biện pháp ngăn chặn dịch hại kịp thời.

- Kỹ thuật tưới gốc: Làm sạch cỏ quanh phần gốc cây, chủ động cắt bỏ các cành bị sâu bệnh, kém phát triển, các cành nằm sát ở mặt đất... Khi tưới thuốc đảm bảo thuốc được ngấm trực tiếp xuống đất nơi có rễ cây, giúp cây có thể hút được thuốc. Lượng thuốc sử dụng tưới tùy theo độ lớn của cây, nhưng phải đảm bảo tưới đẫm thuốc vào vùng quanh gốc cây.

- Kỹ thuật phun : Phun ướt 2 mặt lá, phun đều toàn cây và cần phun đẫm dung dịch thuốc vào cành lá cây hồ tiêu.

- Tưới và phun thuốc vào lúc râm mát. Không tưới thuốc vào lúc trời mưa hay quá nắng để đảm bảo cây hút thuốc được tốt nhất và tránh thuốc bị rửa trôi. Phun thuốc theo chiều gió, không nên ngược hướng để tránh thuốc trừ sâu bay trực tiếp vào người.

- Không pha thuốc với các loại thuốc khác.

- Nếu gần thời gian tưới thuốc có kế hoạch bón phân thì nên tưới thuốc trước khi bón phân khoảng 5 ngày.

- Có thể kết hợp tưới thuốc cùng với các đợt tưới nước định kỳ cho cây hồ tiêu để tiết kiệm chi phí nhân công.

- Cần bảo quản thuốc trừ sâu ở trên cao, vặn kỹ nắp, tránh ở tầm tay trẻ em. Đặc biệt tuyệt đối không tách chiết thuốc trừ sâu sang các chai lọ khác để gây nhầm lẫn, người có

thể uống nhằm. Đối với các vỏ chai lọ thuốc trừ sâu đã sử dụng cần phải cho vào thùng rác theo đúng qui định

3.7. NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH SỬ DỤNG TÍCH HỢP CÁC CHẾ PHẨM SINH HOÁ HỌC CHO CÂY CÀ PHÊ VÀ HỒ TIÊU

3.7.1. Các chế phẩm sinh hoá học tham gia công thức tích hợp

Chế phẩm vi sinh chức năng cho cà phê CAFE HTD-01 có thành phần gồm 05 chủng VSV chức năng (bao gồm 4 chủng VK: *A. chroococum* Ab-CF7.2, *Ac. diazotrophicus* Ac-CF 2.2, *Az. brasilense* As-CF 1.5, *B. subtilis* VL-CF 7.3, *P.* và 01 chủng nấm mốc *A. tubingensis* ML-CF 1.3) có khả năng cố định đạm, phân giải lân và kích thích sinh trưởng với hàm lượng > 10⁷ CFU/g. Các chủng VSV chức năng này được phân lập từ các mẫu đất trồng cà phê tại Tây Nguyên do viện Công nghệ sinh học - viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp.

Chế phẩm vi sinh chức năng cho hồ tiêu HOTIEU HTD-03 có thành phần gồm 05 chủng VSV chức năng (bao gồm 04 chủng VK *Azotobacter vinelandii* Ab-HT 14.2; *Acetobacter diazotrophicus* Ac-HT 4.1; *Azospirillum brasilense* As-HT 14.1; *Bacillus subtilis* ĐK-HT4.5 và 1 chủng nấm mốc *Aspergillus niger* ML-HT 14.2) có khả năng cố định đạm, phân giải lân, đối kháng với VSV gây bệnh và kích thích sinh trưởng với hàm lượng > 10⁷ CFU/g. Các chủng VSV chức năng này được phân lập từ các mẫu đất trồng hồ tiêu tại Tây Nguyên do viện Công nghệ sinh học - viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ cung cấp.

Phân bón vi sinh cải tạo đất POLYFA TN3 có thành phần gồm hữu cơ (22%), humat kali (2,0%), NPK (1,5:3,5:2,5), các VSV (gồm 6 chủng VK *Bacillus megaterium* (BX-F9; CFB3; CFVP17); *Bacillus subtilis* (TIVP18; CF III), *Bacillus flexus* (TIB6), 1 chủng XK *Streptomyces diastatochromogenes* (CM_{5.11}cdk) và 2 chủng vi nấm *Penicillium oxalicum* (N₁ CS₁trk , TiN1)) có khả năng cố định nitơ, phân giải lân, phân giải cellulose, phân giải thuốc BVTV, đối kháng với sinh vật gây hại với hàm lượng > 10⁸ CFU/g do viện Nghiên cứu Khoa học Miền Trung cung cấp.

Phân bón nhả chậm NPK 15.18.18 và NPK 20.0.18 bao gồm các nguyên tố đa lượng gồm N, P, K theo công thức. Bên cạnh đó còn có các thành phần trung lượng khác như Ca,

S, Mg, Si.... Trong đó hàm lượng Ca và S có ý nghĩa quan trọng đối với sự sinh trưởng và phát triển ổn định của cây cà phê nên chúng chiếm từ 1 – 3% trong tổng công thức phân bón. Phân bón nhả chậm được cung cấp cho cây trồng có thời gian nhả chậm trung bình 3 – 6 tháng đảm bảo cung cấp dinh dưỡng liên tục cho cây trồng giúp cây trồng phát triển ổn định. Ngoài ra, phân bón nhả chậm còn giúp tiết kiệm 1 lượng phân bón trung bình 10 – 30% trên các loại nguyên tố khác nhau gồm N, P, K góp phần giảm chi phí đầu tư trong canh tác cây trồng. Phân bón nhả chậm do viện Khoa học vật liệu và ứng dụng - viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp.

Thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 có thành phần là các polyphenol chiết xuất từ thực vật, số đăng ký: 3241/11 RR do viện Nghiên cứu Đào tạo và Tư vấn khoa học công nghệ, Liên hiệp các hội khoa học và kỹ thuật Việt Nam cung cấp.

3.7.2. Cơ sở khoa học xây dựng công thức tích hợp các sản phẩm sinh, hóa học cho cây cà phê và cây hồ tiêu

Căn cứ quy trình gốc là Quy trình tái canh cà phê với ban hành kèm quyết định số 2085/QĐ-BNN-TT ngày 31/5/2016 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

Căn cứ kết quả của nghiên cứu giai đoạn 2011 - 2015 của đề tài cấp Nhà nước “Nghiên cứu phát triển và ứng dụng một số chế phẩm có nguồn gốc sinh học trong canh tác chè, cà phê, hồ tiêu theo hướng phát triển bền vững tại Tây Nguyên”, Mã số: TN3/C01. Đề tài TN3/C01 đã đưa ra được quy trình tích hợp 2 chế phẩm CAFE HTD-01 và ANISAF-SH01 (bảng 3.6.1), với quy trình này giảm 25% lượng phân bón hóa học bằng việc bổ sung chế phẩm VSV đa chức năng CAFE HTD-01 và phun thuốc sinh học ANISAF SH01 phòng chống sâu bệnh cho cà phê làm cho môi trường sinh thái đồng ruộng được cải thiện. Sinh trưởng và năng suất ở các lô thử nghiệm cao hơn lô đối chứng từ 1,5% ÷ 22. Chất lượng quả cà phê từ mô hình thí nghiệm có chất lượng (kích thước, nhân của quả, tỷ lệ hạt > sàng 12) cao hơn, hàm lượng caffein, axit chlorogenic và chất tan cao hơn, nhưng tỷ lệ lõi của quả lại thấp hơn mô hình đối chứng. Tương tự, với cây hồ tiêu, đề tài TN3/C01 giai đoạn 2011 – 2015 cũng đã xây dựng thành công quy trình tích hợp 2 chế phẩm HOTIEU HTD-03 và ANISAF SH01 (bảng 3.6.2), với quy trình này giảm 25% lượng phân bón hóa học bằng việc bổ sung chế phẩm VSV đa chức năng HOTIEU HTD-03 và phun thuốc sinh học ANISAF

SH01 phòng chống sâu bệnh cho cà phê làm cho môi trường sinh thái đồng ruộng được cải thiện. Sinh trưởng và năng suất ở các lô thử nghiệm cao hơn lô đối chứng $8,3 \div 10\%$.

Mục tiêu của đề tài TN16/C02 là tiếp tục tích hợp thêm 2 chế phẩm POLYFA TN3 và phân bón NPK nhả chậm vào quy trình đã được đề xuất từ đề tài TN3/C01 với mục tiêu: giảm được 25% - 35% phân bón hoá học, giảm 30% - 50% thuốc BVTV hoá học, đồng thời cây trồng sinh trưởng phát triển tốt, năng suất đảm bảo, chất lượng nông sản đạt vệ sinh an toàn thực phẩm.

Bảng 3.6.1. Quy trình tích hợp 2 chế phẩm CAFE HTD-01 và thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 sử dụng cho mô hình trồng cà phê trên đất bazan, quy mô 1ha, mật độ 1100 cây/ha (Đề tài TN3/C01)

Thời gian tác động	Nguyên vật liệu <i>(Tính theo lượng thương phẩm)</i>	Khối lượng vật tư nông nghiệp
Tháng 2	Phân hữu cơ vi sinh EAKMAT	750kg
Tháng 3	Phân SA	187,5 kg
Tháng 5	N (Urê)	100 kg
	P ₂ O ₅ (Lân nung chảy)	412 kg
	K ₂ O (Kaliclorua)	90 kg
	Phân hữu cơ (bón lót) 15 m ³ /ha	Ủ phế thải đồng ruộng + Vixura + Trichoderma
	Chế phẩm vixura	30 kg
	Chế phẩm trichoderma	37
	Chế phẩm vi sinh đa chức năng cho cà phê	30 kg
Tháng 7	N (Urê)	135 kg
	K ₂ O (Kaliclorua)	90 kg
Tháng 9	N (Urê)	100 kg
	K ₂ O (Kaliclorua)	120 kg

Tổng cộng	Phân hữu cơ vi sinh Eakmat	750 kg
	Phân hữu cơ (bón lót)	15 m ³ /ha
	SA (kg/ha)	187,5 kg
	Urê (kg/ha)	335 kg
	Lân nung chảy (kg/ha)	412kg
	Kaliclorua (kg/ha)	300 kg
	Chế phẩm vi sinh chức năng cho cây cà phê (kg/ha)	30 kg
	Chế phẩm vixura phân hủy phế thải đồng ruộng	30 kg
	Chế phẩm Trichoderma	37

Bảng 3.6.2. Quy trình tích hợp 2 chế phẩm HOTIEU HTD-03 và thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 sử dụng cho mô hình trồng hồ tiêu trên đất bazan, quy mô 1ha, mật độ 1600 cây/ha (Đề tài TN3/C01)

Thời gian tác động	Nguyên vật liệu	Khối lượng vật tư nông nghiệp
Đợt 1: Tháng 3	Phân SA	133 g/trụ
Đợt 2: Tháng 5	Phân hữu cơ (bón lót) 30m ³ /ha	Phế thải đồng ruộng + vixura + Trichodesma
	Chế phẩm Vixura phân hủy phế thải đồng ruộng (kg/ha)	24 kg/ha
	Chế phẩm Trichodesma (kg/ha)	37 kg/ha
	Chế phẩm vi sinh đa chức năng cho hồ tiêu (kg/ha)	30 kg/ha
	Vôi (kg/ha)	500 kg/ha
	Urê (g/trụ)	82 g/trụ
	Lân (g/trụ)	375 g/trụ
	Clorua kali (g/trụ)	24 g/trụ
Đợt 3: Tháng 9	Urê (g/trụ)	127g/trụ
	Clorua kali (g/trụ)	47 g/trụ
Đợt 4: Tháng 11	Urê (g/trụ)	83 g/trụ
	Clorua kali (g/trụ)	70 g/trụ
Đợt 5: Tháng 1	Urê (g/trụ)	83 g/trụ
	Clorua kali (g/trụ)	47g/trụ
Tổng cộng	Phân hữu cơ 30m ³ /ha	30 m ³

Chế phẩm Vixura phân hủy phế thải đồng ruộng (kg/ha)	24
Chế phẩm Trichodesma (kg/ha)	37
Chế phẩm vi sinh đa chức năng cho hồ tiêu (kg/ha)	30
Vôi (kg)	500
Urê kg/ha	600 kg/ha
Lân kg/ha	6000 kg/ha
Clorua kali kg /ha	300 kg/ha
SA kg/ha	225 kg/ha

Từ quy trình TN3/C01 chúng ta dễ nhận thấy: chế phẩm POLYFA TN3 có thành phần tương đồng với phân hữu cơ vi sinh EAKMAT trong quy trình canh tác cây cà phê TN3/C01, thành phần của 2 loại phân bón được trình bày ở bảng 3.6.3 dưới đây:

Bảng 3.6.3. Thành phần của phân EAKMAT và POLYFA TN3

EAKMAT		POLYFA TN3	
Hữu cơ	15%	Hữu cơ	22%
Axit humic	2,5%	Humat kali	2,0%
Đạm	1,0%	Đạm	1,5%
P ₂ O ₅	0,5%	P ₂ O ₅	3,5%
K ₂ O	0,5%	K ₂ O	2,5%
- Các nguyên tố trung vi lượng		- Các nguyên tố trung vi lượng	
- <i>Chất kích thích sinh trưởng</i>		- <i>Chất kích thích sinh trưởng IAA</i>	
- Các VSV cố định N, phân giải lân hàm lượng > 10 ⁶ CFU/g		- Các VSV cố định N, phân giải lân hàm lượng > 10 ⁸ CFU/g,	
- Các chủng nấm <i>Trichoderma</i>		- VSV phân giải cellulose, đối kháng với sinh vật gây hại hàm lượng > 10 ⁸ CFU/g.	

Bảng 3.6.4. Các công thức tích hợp các chế phẩm sinh hóa học vào cây cà phê

Công thức thí nghiệm	CAFE HTD-01 (HOTIEU HTD-03)	ANISAF SH01	POLYFA TN3	PHÂN NPK nhả chậm
CT1	X	X	X	-
CT2	X	X	X	-
CT3	X	X	X	-

CT4	X	X	X	X
CT5	X	X	X	X
CT6	X	X	X	X
ĐC1 (Bộ NN&PTNT)	-	-	-	-
ĐC2 (nd)	-	-	-	-

Ghi chú: Thí nghiệm 1,4: giảm 25% phân bón hoá học, Thí nghiệm 2,5: giảm 30% phân bón hoá học, Thí nghiệm 3,6: giảm 35% phân bón hoá học.

Từ những đặc điểm thành phần của hai loại phân, để thực hiện mục tiêu tích hợp POLYFA TN3 vào công thức, đề xuất sử dụng POLYFA TN3 thay thế cho phân EAKMAT.

Phân NPK nhả chậm được lựa chọn để tích hợp vào công thức, thay thế 50% phân NPK thường bằng phân NPK nhả chậm 15-18-18 cho đợt bón vào tháng 5 và bằng phân NPK nhả chậm 20-0-18 cho đợt bón vào tháng 7.

Với những lập luận đã trình bày ở trên, đề xuất công thức tích hợp các chế phẩm sinh hoá học như sau:

- Ở công thức thí nghiệm 1, 2, 3: tích hợp POLYFA TN3 vào công thức, chưa tích hợp phân NPK nhả chậm, giảm phân bón hoá học tương ứng với 3 mức 25%, 30% và 35%.

- Ở thí nghiệm 4, 5, 6: tích hợp đồng thời POLYFA TN3 và phân NPK nhả chậm vào công thức, giảm phân bón hoá học tương ứng với 3 mức 25%, 30% và 35%.

Thí nghiệm thiết kế 8 công thức. Mỗi công thức thí nghiệm là 100 cây, diện tích ô thí nghiệm là 900m², tổng diện tích thí nghiệm là 7200m². Giữa các ô thí nghiệm được ngăn cách bằng một hàng cà phê - không theo dõi các chỉ tiêu.

Các công thức thí nghiệm được xây dựng như sau:

Công thức 1 (CT1): giảm 25% phân bón hóa học, 1,5 – 2,5 tấn/ha chế phẩm POLYFA TN3 bón vào tháng 2 (phụ thuộc cà phê giai đoạn kiến thiết/kinh doanh/sau kinh doanh), 30kg/ha CAFE HTD-01 ủ với phân chuồng 1 tháng sau đó bón (liều lượng 5 kg CAFE-HTD 01/01 tấn phân chuồng) vào đầu mùa mưa. ANISAF SH01 sử dụng 5 lần tưới/năm với liều lượng 20 lít/ha, nồng độ 0,7%. Thuốc trừ sâu hóa học giảm 30%-100% (tùy tình hình sâu bệnh hại xuất hiện) so với đối chứng.

Công thức 2 (CT2): giảm 30% phân bón hóa học, 1,5 – 2,5 tấn/ha chế phẩm POLYFA TN3 bón vào tháng 2 (phụ thuộc cà phê giai đoạn kiến thiết/kinh doanh/sau kinh doanh) bón vào tháng 2, 30kg/ha CAFE HTD-01 ủ với phân chuồng 1 tháng sau đó bón (liều lượng

5 kg CAFE-HTD 01/01 tấn phân chuồng) vào đầu mùa mưa. ANISAF SH01 sử dụng 5 lần tưới/năm với liều lượng 20 lít/ha, nồng độ 0,7%. Thuốc trừ sâu hóa học giảm 30%-100% (tùy tình hình sâu bệnh hại xuất hiện) so với đối chứng.

Công thức 3 (CT3): giảm 35% phân bón hóa học, 1,5 tấn/ha chế phẩm POLYFA TN3 (phụ thuộc cà phê giai đoạn kiến thiết/kinh doanh/sau kinh doanh) bón vào tháng 2, 30kg/ha CAFE HTD-01 ủ với phân chuồng 1 tháng sau đó bón (liều lượng 5 kg CAFE-HTD 01/01 tấn phân chuồng) vào đầu mùa mưa. ANISAF SH01 sử dụng 5 lần tưới/năm với liều lượng 20 lít/ha, nồng độ 0,7%. Thuốc trừ sâu hóa học giảm 30%-100% (tùy tình hình sâu bệnh hại xuất hiện) so với đối chứng.

Công thức 4 (CT4): giảm 25% phân bón hóa học, bón 1,5 tấn chế phẩm POLYFA TN3 (phụ thuộc cà phê giai đoạn kiến thiết/kinh doanh/sau kinh doanh) vào tháng 2, thay thế 50% phân hóa học bằng phân nhà chặm, dùng 30kg/ha CAFE HTD-01 ủ với phân chuồng 1 tháng sau đó bón (liều lượng 5 kg CAFE-HTD 01/01 tấn phân chuồng) bón đầu mùa mưa. ANISAF SH01 sử dụng 5 lần tưới/năm với liều lượng 20 lít/ha, nồng độ 0,7%. Thuốc trừ sâu hóa học giảm 30%-100% (tùy tình hình sâu bệnh hại xuất hiện) so với đối chứng.

Công thức 5 (CT5): giảm 30% phân bón hóa học, 1,5 tấn/ha chế phẩm POLYFA TN3 (phụ thuộc cà phê giai đoạn kiến thiết/kinh doanh/sau kinh doanh) bón vào tháng 2; thay thế 50% phân hóa học bằng phân nhà chặm, dùng 30kg/ha CAFE HTD-01 ủ với phân chuồng 1 tháng sau đó bón (liều lượng 5 kg CAFE-HTD 01/01 tấn phân chuồng) bón đầu mùa mưa. ANISAF SH01 sử dụng 5 lần tưới/năm với liều lượng 20 lít/ha, nồng độ 0,7%. Thuốc trừ sâu hóa học giảm 30%-100% (tùy tình hình sâu bệnh hại xuất hiện) so với đối chứng.

Công thức 6 (CT6): giảm 35% phân bón hóa học, bón 1,5 tấn/ha chế phẩm POLYFA TN3 (phụ thuộc cà phê giai đoạn kiến thiết/kinh doanh/sau kinh doanh) vào tháng 2; thay thế 50% phân hóa học bằng phân nhà chặm, dùng 30kg/ha CAFE HTD-01 ủ với phân chuồng 1 tháng sau đó bón (liều lượng 5 kg CAFE-HTD 01/01 tấn phân chuồng) bón đầu mùa mưa. ANISAF SH01 sử dụng 5 lần tưới/năm với liều lượng 20 lít/ha, nồng độ 0,7%. Thuốc trừ sâu hóa học giảm 30%-100% (tùy tình hình sâu bệnh hại xuất hiện) so với đối chứng.

Công thức ĐC: Bón phân và chăm sóc theo quy trình của ngành nông nghiệp 10TCN 478-2001, quyết định ban hành số 2085/QĐ-BNN-TT ngày 31/5/2016.

Công thức ND: theo tập quán canh tác của nông dân.

Quá trình chăm sóc, bón phân áp dụng theo quyết định ban hành số 2085/QĐ-BNN-TT ngày 31/5/2016 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

3.7.3. Nghiên cứu xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học trên cây cà phê giai đoạn kiến thiết

3.7.3.1. Đặc điểm vườn trước khi thực hiện thí nghiệm:

- Cây cà phê với giai đoạn kiến thiết 2 năm tuổi đang ở giai đoạn cảm ứng mầm hoa để ra hoa. Cây cao trung bình 1,37m, số cành trung bình là 25 cành/cây. Tán lá cây phủ rộng 1,1m.

- Đất trồng cà phê giai đoạn kiến thiết là đất thịt pha sét, đất chua (pH = 4,23). Hàm lượng mùn trong đất ở mức giàu nhưng hàm lượng acid humic thấp hơn acid fulvic, tỉ lệ H/F < 1 (0,94). Hàm lượng ni tơ tổng số và ni tơ dễ tiêu ở mức trung bình. Hàm lượng lân tổng số và lân dễ tiêu ở mức giàu. Hàm lượng kali trao đổi trong đất giàu. Trong đất trồng cà phê xuất hiện 5 loại nấm, trong đó có 4 chủng nấm được xác định là gây hại cho cà phê, bao gồm nấm *Fusarium* sp., nấm *Hemileia* sp., và nấm *Colletotrichum* sp. Trong đất cũng xuất hiện 2 nấm có lợi đó là nấm đối kháng *Penicillium* sp. và nấm *Trichoderma* sp. Ngoài ra, trong đất còn xuất hiện tuyến trùng.

- Thời điểm trước khi tiến hành thí nghiệm, vườn cà phê xuất hiện 3 loại bệnh là bệnh thán thư, đốm mắt cua và gỉ sắt với tỉ lệ cây bị hại không cao lần lượt là 7,27%, 2,40%, 1,12%. Đặc biệt, trên vườn thí nghiệm không xuất hiện nấm hồng gây hại. Tỉ lệ rệp muội khá cao, chiếm 7,62%, tiếp theo là sâu đục thân gây hại với tỉ lệ gây hại thấp 0,02%.

3.7.3.2. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các công thức lên các chỉ số của vườn cà phê giai đoạn kiến thiết

a. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu đất

Chỉ tiêu hóa tính đất

Để đánh giá ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu hóa tính đất tiến hành lấy mẫu đất trước thí nghiệm và 4 lần/năm sau khi bón phân 15 đến 20 ngày, phân tích và kết quả trung bình theo dõi được ghi nhận tại bảng 3.6.5:

- Giá trị pH_{KCL} dùng để đánh giá độ chua trao đổi trong đất. Độ chua đất phụ thuộc lớn vào thành phần đá mẹ, chịu ảnh hưởng lớn của điều kiện khí hậu nhưng cũng bị ảnh hưởng do quá trình canh tác của con người. Bón phân hóa học mất cân đối, dư thừa so với nhu cầu của cây cũng đẩy nhanh tốc độ hóa chua của đất, đặc biệt là khi bón các loại phân

như SA, phân có nhiều lưu huỳnh, phân nitrat. Giữa độ chua đất, các chất dinh dưỡng trong đất và sự hấp thu dinh dưỡng của cây trồng có sự liên quan với nhau. Khi đất quá chua, $pH_{KCl} < 4,5$ thì những điều sau đây có thể xảy ra: không có nhiều Ca, Mg, K trong đất, cây có thể bị thiếu; Lân dễ tiêu trong đất bị cố định bởi các ion sắt, nhôm di động, cây không hút được. Vì vậy độ hữu dụng của phân lân khi bón vào đất chua rất kém. Ngoài ra trong đất quá chua, các chất hóa học như nhôm, sắt, mangan ở dạng di động, là các chất độc đối với cây trồng, tác hại đến bộ rễ, tạo điều kiện cho nhiều loại nấm bệnh gây hại đến bộ rễ cây trồng. Và vì sự hạn chế sự phát triển của bộ rễ, sự hấp thu dinh dưỡng của cây trồng bị hạn chế do vậy cây thường bị thiếu hụt các yếu tố dinh dưỡng. Chính vì vậy, giá trị pH_{KCl} có ý nghĩa quan trọng đối với sinh trưởng cây trồng. Đối với cà phê giai đoạn kiến thiết, pH đất có vai trò quyết định đến sự sinh trưởng và phát triển của cà phê ở giai đoạn đầu, do đó sẽ quyết định đến năng suất cà phê giai đoạn kinh doanh. Sau 1 năm thực hiện mô hình, nhận thấy tất cả các công thức tích hợp đều có giá trị pH cao hơn so với ban đầu và có sự sai khác ở các công thức, tăng cao nhất ở công thức CT6 (4,87) và thấp nhất ở công thức đối chứng ND (4,24). Và ở ngưỡng pH thì các bón phân cũng như tích hợp các chế phẩm sinh hóa học và công thức ĐC1 đều thích hợp với sự phát triển của cà phê. Công thức giảm 25% - 35%, bổ sung thay thế bằng các chế phẩm sinh học có ảnh hưởng tích cực đến pH_{KCl} của đất.

Bảng 3.6.5. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu hóa tính của đất (tầng 0 – 30 cm)

Công thức	Các chỉ tiêu theo dõi				
	pH_{KCl}	Hữu cơ (%)	CEC (lđl/100g đất)	Ca^{2+} (lđl/100g đất)	Mg^{2+} (lđl/100g đất)
Trước TN	4,23 ± 0,18	2,87 ± 0,11	17,04 ± 0,16	2,89 ± 0,13	2,13 ± 0,10
CT1	4,55 ± 0,15 ^{ns}	3,36 ± 0,2 ^{ab}	18,35 ± 0,2 ^{ns}	3,01 ± 0,15 ^{ns}	2,12 ± 0,15 ^{ns}
CT2	4,57 ± 0,21	3,35 ± 0,18 ^{ab}	19,09 ± 0,12	3,08 ± 0,15	2,21 ± 0,09
CT3	4,61 ± 0,16	3,37 ± 0,13 ^{ab}	18,9 ± 0,16	2,95 ± 0,15	2,12 ± 0,13
CT4	4,62 ± 0,18	3,39 ± 0,15 ^b	19,50 ± 0,15	3,21 ± 0,15	2,18 ± 0,18
CT5	4,65 ± 0,19	3,41 ± 0,18 ^b	19,11 ± 0,13	3,13 ± 0,15	2,21 ± 0,15
CT6	4,68 ± 0,23	3,48 ± 0,12 ^b	19,08 ± 0,15	3,08 ± 0,15	2,15 ± 0,19
ĐC1	4,53 ± 0,18	2,98 ± 0,14 ^a	17,89 ± 0,18	2,87 ± 0,15	2,12 ± 0,11
ĐC2	4,48 ± 0,16	2,91 ± 0,15 ^a	17,50 ± 0,09	2,89 ± 0,15	2,08 ± 0,16

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm hết thúc thí nghiệm. Các chữ cái khác nhau trong hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; ns: Sai khác không có ý nghĩa.

- Hàm lượng hữu cơ: Kết quả phân tích hàm lượng hữu cơ cho thấy ở tất cả các thí nghiệm và đối chứng đều có hàm lượng tăng. Ở công thức thí nghiệm hàm lượng hữu cơ tổng số tăng cao hơn ở công thức đối chứng, và tăng mạnh nhất ở các công thức sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học (CT4-CT6), sự sai khác này có ý nghĩa thống kê so với công thức đối chứng. Kết quả này cho thấy, sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học, tăng cường bón phân hữu cơ, bổ sung VSV có lợi trong đất sẽ giúp quá trình chuyển hóa các chất hữu cơ trong đất thành mùn tốt hơn, các chất dinh dưỡng được giải phóng từ từ trong phân nhả chậm giúp các VSV chuyển hóa hữu cơ trong đất thành mùn humic tốt hơn việc sử dụng phân hóa học hòa tan nhanh.

- Dung tích hấp phụ (CEC): Theo dõi số liệu trung bình về dung tích hấp phụ trong đất của 8 công thức đạt mức trung bình khá (17,50 lđl/100 g đất đến 19,50 lđl/100 g đất), có sự sai khác nhưng không có ý nghĩa thống kê giữa các công thức so với đối chứng và trước khi bón phân. Kết quả phân tích này cao hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Tiến Sĩ (2009) trên đất trồng cà phê tại Đắk Nông dao động từ 8,70 đến 14,40 lđl/100g đất (năm 1996) và 12,20 đến 17,20 lđl/100g đất (năm 2006).

Bảng 3.6.6. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến các chỉ tiêu dinh dưỡng đất

Công thức	Chất dinh dưỡng tổng số (%)			Chất dinh dưỡng dễ tiêu (mg/100g đất)	
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	P ₂ O ₅	K ₂ O
Trước TN	0,16 ± 0,015 ^{ns}	1,92 ± 0,021 ^{ns}	0,15 ± 0,015 ^{ns}	19,30 ± 0,011 ^{ns}	20,3 ± 0,015 ^{ns}
CT1	0,17 ± 0,025	1,91 ± 0,018	0,17 ± 0,016	23,31 ± 0,015	27,6 ± 0,022
CT2	0,17 ± 0,017	1,89 ± 0,019	0,17 ± 0,012	23,41 ± 0,017	25,0 ± 0,025
CT3	0,16 ± 0,013	1,90 ± 0,015	0,16 ± 0,019	22,38 ± 0,025	26,1 ± 0,019
CT4	0,17 ± 0,015	1,91 ± 0,016	0,18 ± 0,015	23,10 ± 0,016	26,0 ± 0,016
CT5	0,17 ± 0,017	1,90 ± 0,015	0,18 ± 0,018	23,04 ± 0,015	25,0 ± 0,025
CT6	0,17 ± 0,010	1,91 ± 0,014	0,17 ± 0,015	23,0 ± 0,018	26,5 ± 0,014
ĐC1	0,16 ± 0,018	1,93 ± 0,018	0,16 ± 0,011	19,7 ± 0,013	21,5 ± 0,018
ĐC2	0,19 ± 0,014	1,94 ± 0,012	0,18 ± 0,017	19,5 ± 0,015	21,6 ± 0,019

Ghi chú: Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm hết thúc thí nghiệm. ns: sự sai khác không có ý nghĩa thống kê với $p \geq 0,05$

- Hàm lượng Ca^{2+} và Mg^{2+} : Canxi và magie là hai nguyên tố trung lượng rất cần thiết cho cây cà phê, đặc biệt đối với đất đỏ bazan mặc dù là loại đất thích hợp cho cây cà phê sinh trưởng và phát triển nhưng không phải đất ở khu vực nào hàm lượng hai nguyên tố này cũng phù hợp theo yêu cầu của cây trồng. Phân tích hàm lượng Ca^{2+} và Mg^{2+} trong đất của các công thức sau một năm thí nghiệm nhận thấy có sự khác nhau giữa các công thức so với đối chứng. Tuy nhiên sự khác nhau này không ý nghĩa thống kê giữa nhóm công thức. Khi nghiên cứu về vai trò của canxi và magie trong đất tác giả Boyer (1982) cho rằng khi hàm lượng Mg^{2+} trao đổi trong đất tăng mà hàm lượng Ca^{2+} trao đổi không tăng thì cấu trúc của đất trở nên thô hơn và nếu tỉ lệ $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+} < 1$ thì cấu trúc đất không ổn định, nằm trong mức báo động. Trong đất của các công thức bón phân trước và sau thí nghiệm cho thấy tỉ lệ này đạt thấp nhất từ 1,10 (ND), cao nhất 1,56 (CT4). Như vậy, đối chiếu với kết luận của Boyer thì cấu trúc đất tại khu vực thí nghiệm vẫn giữ được sự ổn định chưa tới mức báo động.

- Hàm lượng đạm: Nhìn chung hàm lượng đạm tổng số trong đất trước thí nghiệm ở mức khá. Sau thí nghiệm, của các công thức thí nghiệm tăng nhẹ và có khác nhau ở các công thức thí nghiệm, tuy nhiên sự khác nhau không có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy ở các công thức thí nghiệm giảm 25% - 35% phân đạm không ảnh hưởng đến hàm lượng nitơ tổng số trong đất.

- Hàm lượng phospho tổng số trong đất trước thí nghiệm rất cao, đạt 1,92%, cao hơn rất nhiều so với các tài liệu công bố ở trong nước cũng như chỉ tiêu về dinh dưỡng trong đất trồng. Sau thí nghiệm, hàm lượng hàm lượng P tổng số trong đất không có sự biến động nhiều, nhưng hàm lượng P dễ tiêu trong các công thức thí nghiệm cao hơn hẳn so với trước thí nghiệm và cao hơn các công thức đối chứng. Chứng tỏ, sau một chu trình bón phân hữu cơ, bổ sung các chế phẩm sinh học cho đất, bổ sung các chủng VSV phân giải lân đã làm hàm lượng phospho được giải phóng trong đất nhiều hơn nên hàm lượng dinh dưỡng cao hơn trước thời điểm chưa áp dụng bón bổ sung chế phẩm sinh học. Điều này cho thấy giảm lượng phân lân trong các công thức thí nghiệm không ảnh hưởng tới nhiều tới hàm lượng P trong đất này.

- Hàm lượng kali tổng số và dễ tiêu: Hàm lượng kali tổng số trong đất của các công

thức bón các công thức có sự sai khác nhưng không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này phù hợp với thực tế trong thí nghiệm lượng phân kali được bón theo đúng quy trình của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ở tất cả 6 công thức nên sự khác biệt là không rõ. Hàm lượng kali dễ tiêu tăng mạnh ở các công thức thí nghiệm so với công thức đối chứng. Điều này cho thấy áp dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học, bổ sung VSV có lợi và phân hữu cơ đã ủ hoại mục nên tăng hàm lượng hữu cơ, hàm lượng mùn đặc biệt là hàm lượng acid humic trong đất, làm gia tăng khả năng trao đổi cation và anion trong đất trong đó có ion K^+ .

Chỉ tiêu sinh học đất

Việc sử dụng quá nhiều phân bón và thuốc BVTV hóa học làm ảnh hưởng lớn đến hệ sinh thái đất trồng cà phê đặc biệt là khu hệ VSV. Mô hình sử dụng chế phẩm vi sinh để phân hủy các chất phế thải từ quá trình vệ sinh đồng ruộng (cành, lá già, lá bị sâu bệnh, cỏ dại...) vừa cung cấp lại chất mùn cho cây cà phê vừa có tác dụng diệt các mầm bệnh do khi ủ với chế phẩm vi sinh, nhiệt độ đồng ủ tăng cao ($50-70^{\circ}C$). Đồng thời khi sử dụng chế phẩm VSV chức năng CAFE HTD-01, phân bón vi sinh cải tạo đất POLYFA TN3 đã bổ sung cho đất hệ VSV có ích như VSV cố định đạm, VSV phân giải lân và các VSV sinh chất kích thích sinh trưởng cũng như VSV đối kháng với bệnh hại cà phê. Trong phần khảo sát này, kiểm tra sự biến động mật độ trước và sau thí nghiệm của 2 nhóm nấm *Aspergillus* và *Trichoderma* (nhóm nấm có khả năng đối kháng với các chủng VSV gây bệnh); nhóm VSV cố định đạm VK tổng số thuộc các chi *Bacillus*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Azospirillum* (nhóm các VK có khả năng phân giải lân, cố định đạm...) đã bổ sung vào mô hình dưới dạng các chế phẩm sinh học (CAFE HTD-01, POLYFA TN3...).

Nhóm *Azotobacter* cố định đạm, tạo IAA giúp hệ rễ sinh trưởng tốt hơn trước. Trước khi thực hiện thí nghiệm không thấy có sự tồn tại của nhóm VK này trong mẫu đất được kiểm tra. Sau thí nghiệm, mẫu đất ở công thức thí nghiệm thấy sự xuất hiện nhóm VK *Azotobacter* là do sự bổ sung chế phẩm sinh học có chứa nhóm VK này. Như vậy, nhóm VK này đã thích ứng được với đất trồng cà phê Tây Nguyên.

Nhóm *Azospirillum* trước khi thực hiện thí nghiệm thấy có sự tồn tại của nhóm VK này với số lượng thấp khoảng $1,4.10^3$ CFU/g. Sau khi tiến hành thí nghiệm, số lượng nhóm VK này gần như không có sự biến động ở công thức ĐC1 và ĐC2. Nhờ sự bổ sung thêm chế

phẩm sinh học chứa nhóm VK này nên số lượng nhóm VK này tăng đáng kể là $58 \div 97.10^2$ CFU/g ở các công thức thí nghiệm.

Bảng 3.6.7. Biến động VSV có lợi trong đất trước và sau thí nghiệm

Công thức	Nhóm VK cố định đạm			Nhóm VSV phân giải lân (10^4 CFU /g)	Nhóm VSV đối kháng với chúng VSV gây bệnh	
	<i>Acetobacter</i> (10^2 CFU/g)	<i>Azotobacter</i> (10^3 CFU/g)	<i>Azospirillum</i> (10^3 CFU/g)		<i>Aspergillus</i> (10^3 CFU /g)	<i>Trichoderma</i> (10^4 CFU /g)
Trước TN	1,1	0	1,40	2,5	3,0	1
CT1	97	1,3	58	24	90	50
CT2	86	2,1	87	13	83	43
CT3	68	1,8	68	11	75	51
CT4	45	2,8	78	28	89	65
CT5	23	2,5	97	16	54	58
CT6	73	3,1	89	23	80	60
ĐC1	1,3	0	1,6	3,0	3,5	14
ĐC2	1,6	0	1,4	2,4	3,0	5

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước khi bắt đầu thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Nhóm *Acetobacter* trước thực hiện thí nghiệm, nhóm VK này tồn tại ở đất được kiểm tra với số lượng thấp khoảng 10^2 CFU/g. Sau khi triển khai mô hình số lượng nhóm VK này gần như không có sự biến động ở mẫu ĐC1 và ĐC2. Nhờ sự bổ sung thêm chế phẩm sinh học chứa nhóm VK này nên số lượng nhóm VK này tăng lên đạt $68.10^3 \div 1,1.10^3$ CFU/g. Kết quả đánh giá nhóm VK phân giải lân trong các mẫu đất trồng cà phê cho thấy trước khi tiến hành thí nghiệm nhóm VK này tồn tại trong mẫu đất với số lượng khoảng 10^4 CFU/g. Sau thí nghiệm, số lượng nhóm VK này không có sự biến động ở cả mẫu ĐC1 và ĐC2. Nhờ sự bổ sung thêm chế phẩm sinh học chứa nhóm VK này nên số lượng nhóm VK này tăng đáng kể đạt $1,1 - 2,8.10^5$ CFU/g. Từ những kết quả thu được có thể thấy, việc kết hợp các chế phẩm sinh học đã mang lại hiệu quả góp phần cải tạo đất trồng cà phê đáp ứng được tiêu chí phát triển bền vững.

Trong số các vi nấm gây hại có 2 nhóm *Phytophthora* và *Pythium* gây hại đáng sợ nhất, chúng gây ra bệnh héo xanh (chết nhanh). Cùng với vi nấm nói trên còn có tuyến trùng *Pratylenchus*, *Meloidogyne* sp. và rệp sáp gây ra héo vàng (chết chậm). Các tác nhân trên gây thối và huỷ diệt bộ rễ cà phê, chúng rất khó phòng trừ do chưa có thuốc hoá học đặc trị và tồn nhiều thuốc, gây hại cho đất và nước ngầm. Cách đây 18 năm (khoảng năm 2000) bệnh chết nhanh, vàng lá chưa đáng kể, chưa tạo thành dịch, nhưng hiện nay bệnh trên đã là nỗi ám ảnh

của tất cả các hộ trồng cà phê, đặc biệt tái canh cà phê. Các năm 2010 – 2015 nhiều vườn cà phê đã sử dụng thuốc hoá học phòng trừ bệnh chết nhanh, chết chậm với số lượng lớn (vài chục kg hoặc cả tạ/ha) nhưng hiệu quả không cao và nguy hiểm hơn là để lại dư lượng trong đất và trong nông sản (cà phê nhân). Trong 3-4 năm gần đây (từ 2015) hầu như nông dân không sử dụng thuốc hoá học để phòng trừ bệnh chết nhanh, chết chậm.

Bảng 3.6.8. Kết quả biến động nhóm vật sinh có hại trong đất trước và sau thí nghiệm

Công thức	<i>Fusarium</i> (10² CFU/gam đất)	<i>Colletotrichum</i> (10³ CFU/gam đất)	<i>Pratylenchus</i> (cá thể/gam đất)	<i>Meloidogyne sp.</i> (cá thể/gam đất)
Trước TN	62	43	68	75
CT1	97	1,7	10	16
CT2	86	1,8	20	10
CT3	68	2,3	18	14
CT4	45	2,2	25	8
CT5	23	2	14	12
CT6	73	1,5	15	8
ĐC1	1,3	40	76	89
ĐC2	1,6	78	95	110

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước khi bắt đầu thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Kết quả ghi nhận cho thấy, ở các công thức thí nghiệm có số lượng các sinh vật gây hại đã giảm hẳn, gần đạt đến ngưỡng không gây hại (nếu < 10¹). Các lô đối chứng có giảm số lượng nhưng vẫn còn cao. Điều này đã giúp vườn cà phê không bị bệnh từ rễ. Nếu tiếp tục bón thực hiện tích hợp sử dụng các chế phẩm sinh học vào năm thứ 2 và thứ 3 tiếp theo hy vọng nguồn gây bệnh từ đất sẽ giảm hẳn, số lượng sinh vật gây bệnh từ đất sẽ dưới ngưỡng gây hại.

b. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng một số chất trong lá cà phê

Trong nghiên cứu của Nguyễn Quang Minh (2014) đã chỉ ra rằng, năng suất cây cà phê có tương quan chặt với hàm lượng đạm và kali trong lá. Hàm lượng đạm và kali là 2 yếu tố quan trọng nhất chi phối năng suất cây cà phê. Trong thí nghiệm tiến hành đánh giá hàm lượng đạm, kali và lân trong lá cây ở các công thức khác nhau.

- Hàm lượng đạm: hàm lượng đạm trong lá cà phê của các công thức thí nghiệm có sự khác nhau. Tuy nhiên, sự sai khác này không ý nghĩa thống kê giữa các cặp công thức còn lại. Nghiên cứu của Nguyễn Văn Sanh (2009) xây dựng thang dinh dưỡng khoáng trên lá cà phê với giai đoạn kinh doanh tại Đắk Lắk vào đầu mùa mưa hướng tới dinh dưỡng tối ưu để đạt năng suất 84 từ 3 - 4 tấn nhân/ha/năm cho rằng hàm lượng trong lá tối ưu là 3,05

đến 3,28% và trên 3,28% sẽ xảy ra hiện tượng thừa đạm. Kết quả phân tích về hàm lượng đạm trong lá cà phê nhận thấy ở các công thức giảm lượng đạm 25% - 35% vẫn cho tỷ lệ đạm trong lá đạt tối ưu. Trong khi ở công thức ĐC có hiện tượng thừa đạm nhẹ.

Bảng 3.6.9. Biến động hàm lượng một số chất dinh dưỡng trong lá

Công thức	Hàm lượng đạm (%)	Hàm lượng lân (%)	Hàm lượng kali (%)
Trước thí nghiệm	3,05 ± 0,18	0,14 ± 0,14	1,8 ± 0,10
CT1	3,12 ± 0,18 ^{ns}	0,14 ± 0,15 ^{ns}	1,85 ± 0,15 ^{ns}
CT2	3,10 ± 0,15	0,15 ± 0,11	1,90 ± 0,14
CT3	3,08 ± 0,15	0,14 ± 0,19	1,91 ± 0,18
CT4	3,12 ± 0,15	0,15 ± 0,15	1,82 ± 0,12
CT5	3,05 ± 0,15	0,15 ± 0,10	1,80 ± 0,18
CT6	3,14 ± 0,21	0,14 ± 0,15	1,72 ± 0,18
ĐC1	3,25 ± 0,17	0,16 ± 0,10	1,97 ± 0,20
ĐC2	3,30 ± 0,12	0,16 ± 0,11	1,85 ± 0,14

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước bón phân (tháng 5, 7 và 9/2018). CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm 30 ngày sau bón phân. Ghi chú: ns: Sai khác không có ý nghĩa

- Hàm lượng lân: hàm lượng lân trong lá ở các công thức có sai khác, tuy nhiên sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê. Kết quả nghiên cứu về liều lượng bón lân cho cà phê với giai đoạn kinh doanh trên đất bazan tại tỉnh Đắk Lắk của Lê Hồng Lịch (2008) và Nguyễn Văn Sanh (2009) cho hàm lượng lân trong lá dao động từ 0,13% đến 0,15%. Trong nghiên cứu này, hàm lượng lân cũng nằm trong khoảng 0,14- 0,16. Điều này cho thấy, các công thức thí nghiệm sử dụng lượng phân lân giảm 25% - 35% chưa ảnh hưởng đến hàm lượng lân trong lá, đến năng suất lá.

- Hàm lượng kali: hàm lượng lân trong lá ở các công thức có sai khác, tuy nhiên sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này cho thấy các công thức thí nghiệm sử dụng lượng phân kali giảm 25% - 35% chưa ảnh hưởng đến hàm lượng kali trong lá, đến năng suất lá.

c. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng các sắc tố quang hợp, sinh trưởng phát triển cây cà phê

Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng các sắc tố quang hợp trong lá cà phê
Bảng 3.6.10. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng diệp lục trong lá cà phê giai đoạn kiến thiết

Công thức	Diệp lục a (mg/g lá tươi)	Diệp lục b (mg/g lá tươi)	Carotenoid (mg/g lá tươi)
-----------	---------------------------	---------------------------	---------------------------

Trước thí nghiệm	1,40 ± 0,015	0,83 ± 0,012	0,92 ± 0,017
CT1	1,68 ± 0,017 ^{ns}	0,96 ± 0,013 ^{ns}	1,03 ± 0,014 ^{ns}
CT2	1,62 ± 0,011	0,97 ± 0,017	1,02 ± 0,018
CT3	1,58 ± 0,016	0,96 ± 0,015	1,08 ± 0,016
CT4	1,82 ± 0,019	0,98 ± 0,016	1,02 ± 0,019
CT5	1,73 ± 0,018	0,97 ± 0,014	1,08 ± 0,012
CT6	1,74 ± 0,016	0,95 ± 0,019	1,02 ± 0,016
ĐC1	1,61 ± 0,015	0,86 ± 0,018	0,98 ± 0,018
ĐC2	1,59 ± 0,1	0,82 ± 0,1	1,00 ± 0,1

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước bón phân (tháng 5, 7 và 9/2018). CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm 30 ngày sau bón phân. ns: Sai khác không có ý nghĩa

Diệp lục a: Trong các phân tử diệp lục thì diệp lục a là chỉ tiêu quan trọng nhất và có liên quan chặt chẽ tới năng suất cây trồng nói chung và năng suất cà phê nói riêng. Số liệu phân tích về hàm lượng diệp lục a trong lá cà phê các công thức thí nghiệm cho thấy: hàm lượng diệp lục a ở các công thức thí nghiệm có sai khác không có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy giảm lượng phân bón không ảnh hưởng tới hàm lượng diệp lục a.

Diệp lục b: Hàm lượng diệp lục b và diệp lục tổng số trong lá cà phê được đánh giá không cao như diệp lục a nhưng cũng là những nhân tố quan trọng có liên quan tới năng suất cà phê. Hàm lượng diệp lục b ở các công thức khác nhau dao động từ 0,98 mg/g lá tươi (đối chứng) đến 1,08mg/g lá tươi ở công thức bón phân (CT5). Sự sai khác về hàm lượng diệp lục b trong lá cà phê với giai đoạn kiến thiết ở công thức thí nghiệm không có ý nghĩa thống kê.

Carotenoid: ở các công thức thí nghiệm mặc dù giảm 125% -35% phân N và P không ảnh hưởng tới hàm lượng carotenoid. Sự sai khác ở các công thức thí nghiệm không có ý nghĩa thống kê.

Khi bón phân vô cơ giảm 25% -35% cho cây cà phê với giai đoạn kiến thiết, sự sai khác về các chỉ tiêu diệp lục không có ý nghĩa thống kê. Như vậy, ở các công thức giảm lượng phân bón hóa học không ảnh hưởng đến các sắc tố quang hợp.

d. Ảnh hưởng của công thức tích hợp đến sinh trưởng, phát triển cây cà phê

Sau một năm thử nghiệm các công thức tích hợp, một số chỉ tiêu sinh trưởng phát triển của cây cà phê thể hiện bảng 3.6.11.

Bảng 3.6.11. Chỉ tiêu sinh trưởng cây cà phê kiến thiết trong các công thức tích hợp

Công thức thí nghiệm	Chiều cao cây (cm)	Số cành mới hình thành (cành)	Tăng trưởng cành (cm)
CT1	155 ± 5,5 ^{ns}	20,52 ± 2,0 ^{ab}	29,2 ± 2,1 ^b
CT2	152 ± 6,8	19,76 ± 1,6 ^{ab}	29,2 ± 2,5 ^b
CT3	153 ± 5,4	19,24 ± 1,7 ^{ab}	28,5 ± 2,6 ^b
CT4	158 ± 4,9	22,21 ± 1,8 ^a	29,8 ± 2,1 ^b
CT5	154 ± 7,5	21,81 ± 1,6 ^{ab}	28,8 ± 2,8 ^b
CT6	156 ± 3,8	22,17 ± 1,6 ^a	29,1 ± 1,4 ^b
ĐC1	155 ± 7,9	19,14 ± 1,1 ^b	27,5 ± 2,5 ^{ab}
ĐC2	152 ± 5,5	17,21 ± 1,0 ^c	26,8 ± 2,2 ^a

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; ns: Sai khác không có ý nghĩa

- Số cành mới hình thành: Cà phê là cây dài ngày, khả năng cho năng suất cao và ổn định trong năm sau phụ thuộc rất lớn vào lượng phân bón năm trước để tạo một lượng cành dự trữ nhất định. Khi cho cây cà phê giảm 25% - 35% phân hóa học, thay thế 50% phân nhả chậm và sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho số lượng cành mới cao nhất ở công thức thí nghiệm 4, 6 và 5, tiếp đến là các công thức 1, 2 và 3 (giảm 25% - 35% phân hóa học, thay thế 25% phân nhả chậm và sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học); thấp nhất là công thức bón phân của người dân. Kết quả này cho thấy, việc sử dụng 100% lượng phân bón hóa học cho cây trồng hoàn toàn không hiệu quả đối với cà phê. Các công thức thí nghiệm 1-6 giảm lượng phân hóa học, thay thế phân nhả chậm và có bổ sung chế phẩm sinh học là các loại phân bón hữu cơ vi sinh cải tạo đất nên số cành mới hình thành nhiều hơn và khác biệt so với cách canh tác của nông dân, công thức ĐC.

- Tăng trưởng cành phản ánh khả năng đáp ứng phân bón. Công thức thí nghiệm cho chỉ tiêu tăng trưởng cành tăng có ý nghĩa thống kê so với đối chứng, chứng tỏ các chế phẩm đã thể hiện khả năng kích thích sinh trưởng cà phê giai đoạn kiến thiết.

e. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất cà phê

Các chỉ tiêu như tỷ lệ cành mang quả, tỷ lệ chùm quả trên cành, số quả trên chùm là những yếu tố cấu thành năng suất quả. Vì vậy, để xác định năng suất cây cà phê kiến thiết ở các công thức thí nghiệm, các chỉ tiêu cấu thành năng suất đã được xác định. Kết quả thể hiện ở bảng 3.6.12.

Kết quả thí nghiệm cho thấy, tất cả các công thức thí nghiệm có số cành mang quả

không có sự khác biệt về mặt thống kê. Ở công thức 2 (giảm 30% phân bón hóa học) có số chùm quả/cành nhiều nhất nhưng không có sự khác biệt thống kê với các công thức thí nghiệm còn lại. Công thức canh tác của nông dân có sự khác biệt rõ rệt về số chùm quả trên một cành so với các công thức thí nghiệm. Về số quả/chùm có sự khác biệt thống kê giữa cách canh tác của nông dân với các công thức thí nghiệm. Về năng suất thực thu cho thấy, có sự khác biệt thống kê giữa công thức 6 (giảm 35% lượng phân bón hóa học) với canh thức canh tác của nông dân (ND). Công thức áp dụng theo qui trình của bộ Nông nghiệp không có sự khác biệt thống kê với các công thức thí nghiệm còn lại và kể cả cách canh tác của nông dân. Vì cây cà phê giai đoạn kiến thiết cần phát triển tán lá, chồi và cành do đó áp dụng công thức của bộ nông nghiệp và phát triển nông thôn không ảnh hưởng nhiều đến năng suất cà phê. Ngược lại, cách canh tác theo truyền thống của nông dân ảnh hưởng đến khả năng tạo cành và năng suất cà phê thời kỳ kiến thiết, qua đó sẽ ảnh hưởng đến thời kỳ kinh doanh của cà phê vào thời điểm 3 - 5 năm sắp tới.

Yếu tố cấu thành năng suất đối với cà phê bao gồm: số cây thực thu trên vườn, số cành mang quả/cây, số chùm quả/cành, số quả/chùm và quan trọng nhất là tỷ lệ rụng quả. Quả cà phê cũng như nhiều cây ăn quả khác có tỷ lệ rụng khá cao; tỷ lệ rụng sẽ tác động mạnh tới năng suất. Một nghiên cứu khá đầy đủ về tỷ lệ rụng quả cà phê với cho thấy, các vườn bình thường có tỷ lệ rụng quả 35-40% số quả ban đầu. Thời gian mang quả cà phê khá dài (trên 10 tháng) càng có nhiều giai đoạn cho quả rụng. Lô thí nghiệm có tỷ lệ quả rụng thấp hơn đáng kể lô đối chứng 1 (bón phân chuồng hoai mục) giảm 4,2% - 5,4% và giảm so với công thức đối chứng 2 là 5,3% - 6,5%.

Bảng 3.6.12. Các chỉ tiêu cấu thành năng suất và năng suất cà phê thời kỳ kiến thiết

Công thức	Số cành mang quả	Số chùm quả/cành	Số quả/chùm	Tỷ lệ rụng quả (%)	NSTT (tấn/ha)	NS nhân (tấn/ha)
CT1	55,50 ± 2,1 ^{ns}	11,59 ± 1,4 ^{ab}	14,25 ± 2,1 ^{bc}	24,8 ± 2,3 ^c	11,15 ^b	2,7 ^c
CT2	44,90 ± 2,4	11,88 ± 1,1 ^a	13,78 ± 2,0 ^{bc}	24,0 ± 2,5 ^c	10,5 ^{ab}	2,69 ^c
CT3	57,08 ± 2,6	11,28 ± 1,0 ^{ab}	16,26 ± 1,4 ^{bc}	24,3 ± 2,7 ^c	11,62 ^b	2,68 ^c
CT4	49,50 ± 2,4	11,09 ± 1,7 ^{ab}	13,26 ± 1,9 ^c	24,0 ± 2,2 ^c	11,55 ^b	2,75 ^c

CT5	57,80 ± 2,9	10,76 ± 1,4 ^{ab}	15,53 ± 2,0 ^{bc}	24,1 ± 2,6 ^c	11,44 ^b	2,74 ^c
CT6	59,60 ± 2,7	11,63 ± 1,4 ^{ab}	14,86 ± 2,1 ^{bc}	23,5 ± 2,8 ^c	11,87 ^b	2,86 ^c
ĐC1	59,05 ± 2,2	11,44 ± 1,6 ^{ab}	17,35 ± 1,8 ^{ab}	29,1 ± 2,3 ^{ab}	10,78 ^{ab}	2,45 ^b
ĐC2	51,50 ± 2,6	9,25 ± 1,0 ^c	19,84 ± 2,0 ^a	30,2 ± 2,5 ^a	9,92 ^a	2,2 ^{ab}

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; ns: Sai khác không có ý nghĩa.

- Năng suất cà phê tươi: Là một trong những chỉ tiêu quan trọng cùng với tỉ lệ tươi/nhân quyết định đến năng suất cà phê nhân. Khi áp dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học có ảnh hưởng đến năng suất cà phê tươi dao động trung bình sau năm thí nghiệm đạt thấp nhất 10,5 tấn/ha và cao nhất 10,5 tấn/ha và có ý nghĩa thống kê ở mức 95% so với đối chứng.

- Năng suất cà phê nhân: Sản phẩm cuối cùng người nông dân thu hoạch là cà phê nhân, năng suất cà phê nhân cao, chất lượng sản phẩm tốt kết hợp với sự đầu tư hợp lý sẽ đem lại hiệu quả kinh tế cao cho người sản xuất cà phê. Số liệu thí nghiệm cho thấy: Khi sử dụng các chế phẩm sinh hóa năng suất cà phê nhân dao động trung bình 2,69 tấn/ha đến 2,86 tấn/ha và có ý nghĩa thống kê ở mức 95% so với đối chứng.

Như vậy, sau năm thí nghiệm bón phân cho cà phê với giai đoạn kiến thiết 2 năm tuổi trên đất bazan với chế độ bón phân kết hợp sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học đã làm tăng từ 9% đến 17% so với quy trình của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn và tăng 22% -30% so với canh tác của người dân, đặc biệt khi bón giảm đạm và lân ở mức 35%, thay thế phân thông thường bằng phân nhả chậm và sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học.

g. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến tỷ lệ hạt cà phê nhân xuất khẩu

Chất lượng cà phê nhân phụ thuộc vào rất nhiều chỉ tiêu như: Hàm lượng cafein, dư lượng thuốc BVTV, màu sắc, mùi vị... nhưng theo Tiêu chuẩn Quốc gia về chất lượng cà phê nhân xuất khẩu (TCVN 4193:2005) đối với cà phê vối thì kích cỡ nhân hạt cà phê trên sàng là một trong những chỉ tiêu rất quan trọng không những quyết định phần lớn đến chất lượng cà phê mà còn ảnh hưởng đến giá bán góp phần nâng cao giá trị cà phê xuất khẩu của Việt Nam. Vì vậy, trong nghiên cứu này chỉ đề cập đến chỉ tiêu kích cỡ hạt cà phê nhân trên sàng, đặc biệt là trên sàng 18 (hạng đặc biệt) và trên sàng 16 (hạng 1). Theo tiêu chuẩn

Quốc gia về chất lượng cà phê nhân xuất khẩu đối với cà phê vối thì cà phê hạng đặc biệt (với cỡ sàng S18/S16 có tỉ lệ khối lượng tối thiểu cà phê nhân trên sàng % đạt 90/10, có số lỗi tối đa là 30 trong 300g mẫu) và hạng 1 (với cỡ sàng S16/S13 có tỉ lệ khối lượng tối thiểu cà phê nhân trên sàng % đạt 90/10, có số lỗi tối đa là 90 trong 300g mẫu) mới đủ tiêu chuẩn xuất khẩu. Vì vậy, chỉ theo dõi ảnh hưởng của công thức tích hợp đến tỉ lệ % hạt cà phê trên sàng 16 (gồm cả tỉ lệ % hạt cà phê trên sàng 18 đạt hạng đặc biệt và hạng 1 để xuất khẩu - phụ biểu 3). Kích cỡ hạt cà phê nhân lớn hay nhỏ là đặc điểm di truyền của từng giống cà phê, các biện pháp canh tác như bón phân, tưới nước, thuốc BVTV... chỉ ảnh hưởng một phần đến kích cỡ hạt cà phê nhân chứ không ảnh hưởng nhiều như biện pháp giống mới. Khi theo dõi tỉ lệ % hạt cà phê trên sàng đủ tiêu chuẩn xuất khẩu trong các công thức tích hợp so với lượng phân bón theo quy trình của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn cho thấy: các công thức tích hợp so với công thức của Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn cho cây cà phê vối giai đoạn kinh doanh trên đất bazan đã làm tăng tỉ lệ % hạt cà phê nhân trên sàng >7,1 mm (hạng đặc biệt) và trên sàng >6,3 mm (hạng 1) dao động từ 35,48% (CT3) đến 37,64% (CT6).

Kết quả điều tra vùng trồng cà phê vối Tây Nguyên của tác giả Lê Ngọc Báu (2001) cho rằng: Chỉ có 30% số cây cà phê trên vườn là có khả năng cho năng suất cao, kích thước và khối lượng hạt nhỏ so với cà phê xuất khẩu của nhiều nước trên thế giới nên kém hấp dẫn đối với khách hàng. Cà phê xuất khẩu có chất lượng loại 1 chỉ chiếm 10%, sản phẩm trong điều kiện sản xuất và chế biến tốt có tỉ lệ hạt trên sàng 16 (6,3 mm) cũng chỉ đạt 30 - 40%. So sánh với nhận định trên các công thức tích hợp cho cà phê vối sau một năm thí nghiệm đa số cho tỉ lệ hạt trên sàng 16 (6,3 mm) ở mức dưới 40%.

Bảng 3.6.13. Ảnh hưởng của quy trình tích hợp đến tỷ lệ hạt cà phê nhân xuất khẩu

Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ % hạt cà phê nhân trên sàng		
	S18 (hạng đặc biệt) (>7,1mm)	S16 (hạng 1) (>6,3mm)	Tổng cộng
CT1	5,64	30,72	36,36
CT2	5,54	30,60	36,14
CT3	5,43	30,05	35,48
CT4	5,41	31,54	36,95
CT5	5,54	31,2	36,74
CT6	5,68	31,96	37,64

ĐC1	4,67	28,81	33,48
ĐC2	4,25	27,89	32,14

Ghi chú: Phân hạng chất lượng cà phê nhân áp dụng theo TCVN 4193:2005.

Như vậy, sau năm thí nghiệm bón phân cho cà phê với giai đoạn kinh doanh trên đất bazan quy trình tích hợp các chế phẩm sinh hóa học đồng thời giảm phân N, P so với quy trình của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã cải thiện được tỉ lệ hạt cà phê nhân xuất khẩu, đặc biệt có công thức 6 khi giảm 35% lượng N, P đã cải thiện được tỉ lệ hạt cà phê trên sàng 16 từ 3,16% đến 4,5% so với đối chứng 1 và 2.

h. Diễn biến sâu bệnh hại

Trong năm thí nghiệm, tại ở các địa điểm thực hiện thí nghiệm chủ yếu xuất hiện rệp sáp, gỉ sắt và thán thư. Trong quá trình thực hiện, tình hình xử lý thuốc BVTV hóa học ở các ô thí nghiệm và đối chứng như sau: ở ô thí nghiệm không phun thuốc BVTV hóa học. Trong khi đó ở các ô đối chứng đã phun 2 lần thuốc BVTV thực vật hóa học để phòng trừ rệp sáp và 1 lần để phòng thán thư và 1 lần phòng tuyến trùng. Như vậy, mô hình thí nghiệm đã giảm 100% thuốc trừ sâu hóa học so với đối chứng.

Việc theo dõi các chỉ tiêu thí nghiệm được thực hiện hàng tháng. Kết quả ghi nhận các loại bệnh khác nhau vào các thời điểm khác nhau trong năm và được ghi chép vào thời điểm bắt đầu xuất hiện bệnh đến thời điểm sau áp dụng các biện pháp xử lý.

Diễn biến rệp sáp hại cà phê

Bảng 3.6.14. Ảnh hưởng của công thức tích hợp tới diễn biến rệp sáp trên cà phê giai đoạn kiến thiết

Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ cây bị rệp sáp (%)	Số con/cây	Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ cây bị rệp sáp (%)	Số con/cây
Trước TN	7,62	88,5	CT5	6	6,4
CT1	5	12,5	CT6	5	9,7
CT2	6	10,4	ĐC1	7	14,6
CT3	5	15,5	ĐC2	8	18,2
CT4	4	8,7			

Trước TN: đánh giá tại các thời điểm 7 ngày trước khi bắt đầu thí nghiệm. CT1-6: đánh giá tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Từ kết quả bảng 3.6.14 cho thấy tỉ lệ cây cà phê bị rệp sáp có chiều hướng giảm mạnh tại thời điểm sau thí nghiệm so với thời điểm trước thí nghiệm ở các công thức thí

nghiệm và công thức đối chứng. Đặc biệt, ở các công thức thí nghiệm chỉ sử dụng thuốc thảo mộc ANISAF SH01 không sử dụng thêm thuốc BVTV hóa học, mức độ gây hại ở cả tỷ lệ cây bị bệnh và số lượng con/cây giảm mạnh. Điều này chứng tỏ, việc sử dụng chế phẩm ANISAF SH01 có tác dụng diệt trừ và phòng ngừa hiệu quả rệp sáp hại cà phê.

Diễn biến bệnh hại cà phê

Bảng 3.6.15. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp tới diễn biến bệnh hại cà phê giai đoạn kiến thiết

Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ cây bị bệnh thán thư (%)	Tỷ lệ cây bị bệnh gỉ sắt (%)
Trước TN	7,92	3,4
CT1	4	3
CT2	3	2
CT3	3	2
CT4	5	2
CT5	3	1
CT6	3	3
ĐC1	6	3
ĐC2	7	3

Trước TN: đánh giá tại các thời điểm 7 ngày trước khi bắt đầu thí nghiệm. CT1-6: đánh giá tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

- Tỷ lệ cây bị bệnh thán thư giảm mạnh ở các công thức thí nghiệm và đều giảm nhẹ ở công thức bón phân của người dân và công thức ĐC1. Kết quả này cũng chứng minh được vai trò của việc sử dụng kết hợp bón phân cân đối, hợp lý, đồng thời kết hợp bổ sung tích hợp các chế phẩm sinh học có chứa VSV có lợi và VSV đối kháng nên đã làm giảm mật độ bào tử nấm gây bệnh thán thư, do đó sẽ làm ức chế và giảm mức độ phát triển lây lan của bệnh thán thư gây hại mặc dù không phun thuốc BVTV hóa học phòng trừ nấm như ở hai công thức đối chứng.

- Tỷ lệ cây bị bệnh gỉ sắt không cao và không có sự biến động lớn vào thời điểm trước thí nghiệm và vào thời điểm thu hoạch. Các công thức thí nghiệm đều có tỷ lệ cây bị bệnh gỉ sắt sau thí nghiệm giảm mạnh so với trước thí nghiệm. Tuy nhiên, ở công thức đối chứng có tỷ lệ cây bị bệnh gỉ sắt giảm nhẹ so với thời điểm trước thí nghiệm. Kết quả thí nghiệm cho thấy được vai trò của việc bón phân, tỷ lệ dinh dưỡng cho cà phê. Ở các công thức thí nghiệm, kể cả công thức của nông dân vào thời điểm thu hoạch đều có tỷ lệ bệnh gỉ

sắt giảm hơn so với trước thí nghiệm. Điều này có thể giải thích, thứ nhất là do các công thức này bón cân đối NPK. Đối với công thức đối chứng, lượng phân bón chỉ tập trung vào phân đạm ure và kali chlorua. Đạm ure giúp cây phát triển mạnh về tán lá, hình thành mô non nên làm giảm sức đề kháng, là môi trường thích hợp để các loài nấm bệnh gây hại. Thứ hai, việc bổ sung các chế phẩm sinh học ở các công thức thí nghiệm giúp bổ sung lượng lớn mật độ các VSV đối kháng nấm *Hemileia* gây bệnh gỉ sắt trong đất, tỉ lệ bệnh gỉ sắt trên cây giảm mạnh ở các công thức thí nghiệm mặc dù không phun thuốc diệt trừ nấm.

i. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hiệu quả kinh tế

Các công thức sử dụng tích hợp các chế phẩm sẽ phát sinh thêm chi phí tăng từ 300.000đ - 3.300.000đ. Trong khi đó, thu nhập tăng lên do tăng năng suất so với ĐC1 dao động 7.820.000 - 13.940.000đ, so với ĐC2 tăng dao động từ 16.320.000đ - 22.440.000đ.

Lợi nhuận lâu dài là khi sử dụng tích hợp các chế phẩm là cải thiện lý hóa đất đai theo hướng có lợi cho cây cà phê, hệ VSV có ích trong đất tăng, mật độ các chủng VSV bị ức chế giảm, bộ rễ cà phê phục hồi và tăng kích thích sinh trưởng số lượng rễ, qua đó giúp cây tăng khả năng kháng bệnh, tăng sinh trưởng cho những năm tiếp theo. Vì vậy, môi trường canh tác, năng suất và chất lượng cà phê được cải thiện theo hướng bền vững.

Bảng 3.6.16. Thu nhập từ các ô thực hiện công thức thí nghiệm

Công thức	Năng suất (tấn/ha)	Thu nhập (1.000đ)	Thu nhập tăng chênh so với ĐC1	Thu nhập tăng chênh so với ĐC2
CT1	2,7	91.800	8.500	17.000
CT2	2,69	91.460	8.160	16.660
CT3	2,68	91.120	7.820	16.320
CT4	2,75	93.500	9.860	18.700
CT5	2,74	93.160	9.860	18.360
CT6	2,86	97.240	13.940	22.440
ĐC1	2,45	83.300		
ĐC2	2,2	74.800		

Ghi chú: giá bán cà phê 34 triệu đồng/tấn

Bảng 3.6.17. Chi phí tăng thêm khi sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho cà phê kiến thiết

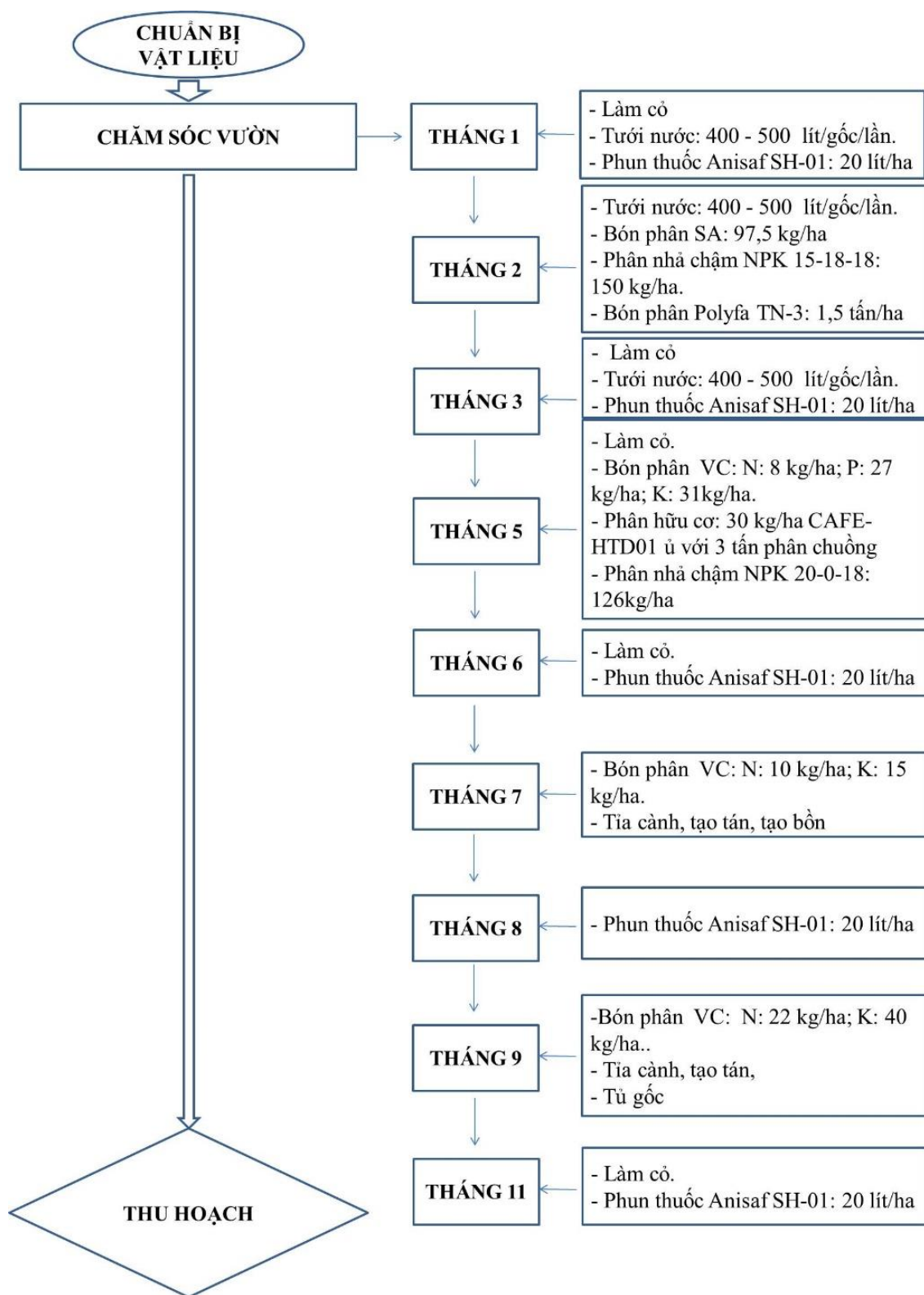
DVT: 1.000 đ, cho 01 ha

Công thức	Chi thêm bón chế phẩm	Chi thêm công bón chế phẩm và thu hái	Chi giảm do giảm thuốc BVTV	Chi giảm do giảm phân hóa học	Chi giảm công phun thuốc BVTV	Chi phí tăng thêm so với ĐC
1	2	3	4	5	6	8
CT1	20.800	1.500	10.500	7.500	1000	3.300
CT2	20.800	1.500	10.500	9.000	1000	1.800
CT3	20.800	1.500	10.500	10.500	1000	300
CT4	20.800	1.500	10.500	7.500	1.000	3.300
CT5	20.800	1.500	10.500	9.000	1.000	1.800
CT6	20.800	1.500	10.500	10.500	1.000	300

Ghi chú: giá phân bón POLYFA TN3: 4 triệu đồng/tấn; Anisaf SH01: 120.000 đồng/lít; CAFE HTD-01: 60.000đ/kg; công lao động 200.000 đ/công; giá bán cà phê 34 triệu đồng/tấn

3.7.3.3. Đề xuất quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học trên cây cà phê giai đoạn kiến thiết

Căn cứ kết quả đã trình bày ở trên, đề xuất quy trình tích hợp các sản phẩm sinh hoá học bao gồm chế phẩm CAFE HTD-01, POLYFA TN3, phân bón nhả chậm NPK và thuốc trừ sâu sinh học ANISAF SH01 cho cây cà phê giai đoạn kiến thiết.



Hình 3.6.1. Sơ đồ quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho cây cà phê giai đoạn kiến thiết

Mô tả quy trình

- **Chuẩn bị nguyên vật liệu:**

a/ Chế phẩm CAFE HTD-01:

- Phân hữu cơ đã hoai mục: 6 tấn
- NPK: 30kg
- Chế phẩm CAFE HTD-01: 30 kg
- Chế phẩm Trichoderma tinh: 2 kg

Cách ủ:

Hòa chế phẩm CAFE HTD-01 vào 150 lít nước, để thời gian 3-5 tiếng đồng hồ cho tan đều.

Tiến hành ủ: Hỗn hợp phân hữu cơ (hoặc phân chuồng) + NPK + dung dịch chế phẩm CAFE HTD-01 được trộn đều. Tưới thêm nước bảo đảm đủ ẩm từ 50 - 60% (lấy một nắm bóp chặt thấy rỉ nước ra kẽ tay là được). Đánh đồng, phủ bạt để giữ ẩm. Tuyệt đối không được nén chặt đồng ủ (không dẫm đạp lên đồng ủ).

Sau khi ủ 10 ngày thu được phân bón hữu cơ vi sinh có thể mang đi bón cho cây.

Chú ý:

- Không sử dụng nước máy để ủ.
- Phân vi sinh không trộn chung với phân chuồng chưa hoai mục.
- Không được phơi phân vi sinh dưới ánh nắng mặt trời (Khi trộn phải tiến hành nơi râm mát).

b/ Thuốc trừ sâu sinh học ANISAF SH01 :

Nồng độ tưới: 0,7%

Cách pha:

Lấy 700 ml thuốc ANISAF SH01 pha với 99,3 lít nước để được 100 lít thuốc đã pha.

Để pha 20 lít thuốc ANISAF SH01 cần pha với 2837 lít nước để được 2857 lít thuốc.

- **Chăm sóc vườn cây:**

Tháng 1:

Bước 1: Làm cỏ: Đối với cà phê kiến thiết cần làm sạch cỏ từ 5 - 6 lần/năm ở trên hàng cà phê; diện tích làm cỏ rộng ra ngoài tán cây cà phê mỗi bên 0,5 m. Đối với đất dốc, chỉ làm cỏ theo băng trên hàng cà phê, không làm cỏ toàn bộ diện tích.

Bước 2: Tưới nước:

- Chu kỳ tưới 20 - 25 ngày. Thời điểm tưới lần đầu được xác định khi mầm hoa đã phát triển đầy đủ ở các đốt ngoài cùng của cành, thông thường sau khi kết thúc mùa mưa 2 - 2,5 tháng (Tầm tháng 1 hàng năm). Trong vụ tưới cần theo dõi lượng mưa để điều chỉnh lượng nước hay chu kỳ tưới (lượng mưa 35 - 40 mm có thể thay thế cho 1 lần tưới).
- Cách thức, liều lượng tưới: Tưới gốc: 350 - 400 lít/gốc/lần.

Bước 3: Phun thuốc ANISAF SH01:

- Liều lượng: khoảng 2,5 lít/gốc, nồng độ: 0,7%
- Cách thức: Tưới phun vào cả cành, lá và gốc cây cà phê.
- Chú ý: Làm sạch lá, cỏ quanh phần gốc sẽ tưới thuốc để đảm bảo thuốc được ngấm trực tiếp xuống đất nơi có rễ cây, giúp cây có thể hút được thuốc; Tưới vào lúc râm mát. Không tưới thuốc vào lúc trời mưa hay quá nắng để đảm bảo cây hút thuốc được tốt nhất và tránh thuốc bị rửa trôi. Nếu gần thời gian tưới thuốc có kế hoạch bón phân thì nên tưới thuốc trước khi bón phân khoảng 5 ngày.

Bước 4: Bón phân POLYFA TN3:

- Liều lượng: 1,5 tấn/ha
- Cách bón: Phân được bón theo rãnh, được đào dọc theo một bên thành bồn 20 cm, sâu 25 - 30 cm, bón khoảng 1,5 kg phân/gốc cà phê, sau đó lấp đất lại.

Tháng 2:

Bước 1: Tưới nước:

- Cách thức, liều lượng tưới: tương tự tháng 1.

Bước 2: Bón phân SA:

- Liều lượng: 97,5 kg/ha
- Cách bón: Phân bón theo rãnh của hình chiếu tán cây, sau đó lấp đất lại.

Tháng 3:

Bước 1: Làm cỏ: cách thức làm cỏ tương tự tháng 1.

Bước 2: Tưới nước: cách thức, liều lượng tưới tương tự tháng 1.

Bước 3: Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

Tháng 5:

Bước 1: Làm cỏ: cách thức làm cỏ tương tự tháng 1.

Bước 2: Bón phân:

Phân vô cơ: Bón phân khi đất đủ ẩm. Phân được bón vào rãnh hoặc vào hốc cách gốc 30 - 40 cm và lấp đất lại, không nên trộn phân lân với phân đạm. Phân vô cơ bón với liều lượng: Urê: 16 kg/ha, Lân nung chảy: 179 kg/ha, Kali clorua: 20 kg/ha; Phân nhỏ chậm NPK: 150 kg/ha;

Phân hữu cơ ủ với chế phẩm CAFE HTD-01 và chế phẩm Trichoderma: Phân được bón theo rãnh, được đào dọc theo một bên thành bồn 20 cm, sâu 25 - 30 cm, bón khoảng 5,5 kg phân/gốc cà phê, sau đó thì lấp đất lại.

Tháng 6:

Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

Tháng 7:

Bước 1: Tỉa cành, tạo tán:

- Tạo hình đơn thân có hãm ngọn: Trồng 1 cây/hố thì nuôi thêm 1 thân, hãm ngọn lần 1 ở độ cao 1,2 - 1,3 m đối với cây thực sinh và 1,0 - 1,1 m đối với cây ghép.

- Tạo hình đa thân không hãm ngọn: Nuôi thêm 2 - 3 thân mới.

- Đánh chồi thường xuyên 1 tháng/lần vào mùa mưa và 2 tháng/lần vào mùa khô: tiến hành tỉa thưa bớt các cành thứ cấp mọc ở các vị trí không thuận lợi (nằm sâu trong tán, mọc vượt, mọc chen chúc nhiều cành thứ cấp trên cùng một đốt) để cây được thông thoáng.

Bước 2: Làm cỏ: cách thức làm cỏ tương tự tháng 1.

Bước 3: Tạo bồn: Bồn được mở rộng theo tán cây với độ sâu 15 - 20 cm.

Bước 4: Bón phân:

Phân vô cơ: liều lượng: Urê: 48 kg/ha, Lân nung chảy: 179 kg/ha, Kali clorua: 60 kg/ha. Cách thức tương tự tháng 5.

Tháng 6:

Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

Tháng 9:

Bước 1: Tỉa cành, tạo tán: Tương tự tháng 7.

Bước 2: Làm cỏ: cách thức làm cỏ tương tự tháng 1.

Bước 3: Tủ gốc bằng vật liệu hữu cơ như rơm rạ, cây phân xanh, tàn dư thực vật... Vật liệu tủ phải cách gốc 10 - 15 cm.

Bước 4: Bón phân:

Phân vô cơ: liều lượng: Urê: 49 kg/ha, Lân nung chảy: 179 kg/ha, Kaliclorua: 80 kg/ha. Cách thức tương tự tháng 5.

Tháng 11:

Bước 1: Làm cỏ: cách thức làm cỏ tương tự tháng 1.

Bước 2: Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

2.3.3. Thu hoạch:

Thời điểm thu hoạch: Căn cứ vào tỷ lệ quả chín trên vườn, thường hái 3 đợt/ 1 vụ:

- Hái đợt 1: khi vườn có 20 - 25% quả chín.
- Hái đợt 2 khi chín rộ (trên 50% quả chín).
- Hái đợt 3 sau đợt 2 khoảng 20 ngày.

Kỹ thuật thu hái: Có 3 cách:

- (1) Hái chọn: Dùng tay lựa các quả chín để hái.
- (2) Hái tuốt: Dùng tay tuốt tất cả các chùm quả từ gốc cành ra phía ngọn cành.
- (3) Hái tuốt chọn: Dùng tay vặt những chùm có nhiều quả chín, chừa lại quả xanh trong chùm và trên cành.

Chú ý: Quả để chế biến ướt cần hái chọn hoặc tuốt chọn. Quả để chế biến khô có thể hái tuốt; tuy vậy nên tuốt chọn để tỷ lệ quả chín càng nhiều càng tốt.

Loại bỏ tạp chất và đóng bao

- Loại bỏ các tạp chất lá cây, cành khô trong đồng quả, sau đó dồn quả đầy bao rồi buộc/khâu kín miệng bao.

- Quét lượm quả rơi vãi ngoài đất, loại bỏ tạp chất và đem phơi riêng.

Vận chuyển và lưu giữ quả tươi:

- Vận chuyển quả về nơi chế biến ngay trong ngày.
- Không lưu giữ quả quá 12 giờ với cà phê chè hoặc quá 24 giờ với cà phê vối khi chế biến ướt; không quá 24 giờ khi chế biến khô, đặc biệt trong điều kiện nhiệt độ cao.

- Trường hợp chế biến không kịp, cần đổ quả trên nền khô ráo, sạch và thông thoáng, lớp quả không dày quá 30 cm và không lưu giữ quả quá 24 giờ.

Quy trình được sử dụng để xây dựng mô hình trình diễn ở nội dung tiếp theo.

3.7.4. Nghiên cứu xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học trên cây cà phê kinh doanh

3.7.4.1. Đặc điểm vườn trước khi thực hiện thí nghiệm:

Cà phê kinh doanh, 9 năm tuổi, đã cho thu hoạch ổn định, năng suất trung bình là 4 tấn/ha, đang ở giai đoạn cảm ứng mầm hoa để ra hoa. Cây cao trung bình 1,8 m, số cành trung bình là 52 cành/cây. Tán lá cây phủ rộng 1,5m. Cây xanh, không có triệu chứng của bệnh vàng lá cà phê. Khoảng cách trồng đồng đều nhau với 3,5 m x 3,0 m. Mật độ trung bình là 952 cây/ha. Cỏ dại gây hại trong vườn chủ yếu là cỏ xuyên chi, với mật độ là 6,5 cây/m².

Đất trồng cà phê giai đoạn kinh doanh có đất rất chua (pH = 4,2), hàm lượng các chất hòa tan tương đối cao (EC = 520 μ S). Hàm lượng mùn tổng số giàu với 4,15%. Trong đất mùn humic giàu hơn mùn fulvic, tỉ lệ H/F > 1 nên rất tốt cho cây trồng sinh trưởng và phát triển. Hàm lượng nitơ, phospho tổng số giàu nhưng hàm lượng nitơ dễ tiêu ở mức trung bình, hàm lượng phospho dễ tiêu ở mức giàu. Hàm lượng kali hòa tan trong đất ở mức trung bình. Trước thời điểm thí nghiệm, trong đất trồng cà phê xuất hiện 5 loại nấm, trong đó có 3 chủng nấm được xác định là gây hại cho cà phê, bao gồm nấm *Fusarium* sp., nấm *Hemileia* sp., nấm *Colletotrichum* sp. Trong đất cũng xuất hiện 2 nấm có lợi đó là nấm đối kháng *Penicillium* sp. và nấm *Trichoderma* sp. Ngoài ra, trong đất còn xuất hiện tuyến trùng với mật độ khá cao.

Kết quả điều tra các loại bệnh tại vườn thí nghiệm cho thấy tại thời điểm ban đầu trên vườn cà phê chỉ xuất hiện 3 loại bệnh phổ biến trên cà phê đó là bệnh gỉ sắt, bệnh thán thư và bệnh đốm mắt cua với tỉ lệ cây bị hại cao lần lượt là 23,57%, 11,84% và 8,92%. Rệp gây hại với cấp hại 5 chiếm tỉ lệ 32,38% tổng số cây trong vườn vị rệp tấn công. Tỉ lệ một đục cành chiếm 1,82% số lượng cây trong vườn bị một gây hại. Nhưng ngược lại, trên vườn cà phê giai đoạn kinh doanh không bị sâu đục thân gây hại.

3.7.4.2. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các công thức lên các chỉ số của vườn cà phê giai đoạn kinh doanh

a. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu đất

Chỉ tiêu hóa tính đất

Để đánh giá ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu hóa tính đất tiến hành lấy mẫu đất trước thí nghiệm và 4 lần/năm sau khi bón phân 15 đến 20 ngày, phân tích và kết quả trung bình theo dõi được ghi nhận tại bảng 3.6.18:

Bảng 3.6.18. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu hóa tính của đất (tầng 0 – 30 cm)

Công thức	Các chỉ tiêu theo dõi				
	pH _{KCl}	Hữu cơ (%)	CEC (lđl/100g đất)	Ca ²⁺ (lđl/100g đất)	Mg ²⁺ (lđl/100g đất)
Trước TN	4,20 ± 0,18	4,15 ± 0,19	18,88 ± 2,28	2,89 ± 0,18	2,13 ± 0,08
CT1	4,58 ± 0,13 ^{ns}	4,56 ± 0,17 ^{ab}	24,35 ± 1,26 ^{ns}	3,01 ± 0,1 ^{ns}	2,12 ± 0,12 ^{ns}
CT2	4,55 ± 0,18	4,30 ± 0,14 ^{ab}	23,10 ± 1,3	3,08 ± 0,11	2,21 ± 0,12
CT3	4,60 ± 0,15	4,37 ± 0,19 ^{ab}	22,90 ± 2,4	2,95 ± 0,13	2,12 ± 0,09
CT4	4,61 ± 0,18	4,59 ± 0,20 ^b	25,40 ± 2,5	3,21 ± 0,14	2,18 ± 0,12
CT5	4,60 ± 0,24	4,41 ± 0,16 ^b	23,60 ± 1,47	3,13 ± 0,20	2,21 ± 0,15
CT6	4,63 ± 0,27	4,48 ± 0,26 ^b	21,10 ± 1,2	3,08 ± 0,19	2,15 ± 0,09
ĐC1	4,50 ± 0,19	4,18 ± 0,18 ^a	19,90 ± 1,3	2,87 ± 0,11	2,12 ± 0,12
ĐC2	4,45 ± 0,16	4,10 ± 0,11 ^a	20,10 ± 1,0	2,89 ± 0,10	2,08 ± 0,11

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm hết thúc thí nghiệm. Các chữ cái khác nhau trong hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; ns: Sai khác không có ý nghĩa

- Sau 1 năm thực hiện thí nghiệm, nhận thấy tất cả các công thức tích hợp đều có giá trị pH cao hơn so với ban đầu và có sự sai khác ở các công thức, tăng cao nhất ở công thức CT6 (4,63) và thấp nhất ở công thức đối chứng ND (4,45). Và ở ngưỡng pH thì các bón phân cũng như tích hợp các chế phẩm sinh hóa học và công thức ĐC1 đều thích hợp với sự phát triển của cà phê. Công thức giảm 25% - 35%, bổ sung thay thế bằng các chế phẩm sinh học có ảnh hưởng tích cực đến pH_{KCl} của đất.

- Hàm lượng hữu cơ: Kết quả phân tích hàm lượng hữu cơ cho thấy, ở tất cả các thí nghiệm và công thức đối chứng đều có hàm lượng tăng. Ở công thức thí nghiệm hàm lượng hữu cơ tổng số tăng cao hơn ở công thức đối chứng, và tăng mạnh nhất ở các công thức sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học (CT4-CT6), sự sai khác này có ý nghĩa thống kê so với công thức đối chứng. Kết quả này cho thấy, sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học, tăng cường bón phân hữu cơ, bổ sung VSV có lợi trong đất sẽ giúp quá trình chuyển hóa các chất hữu cơ trong đất thành mùn tốt hơn, các chất dinh dưỡng được giải phóng từ từ trong phân nhả chậm giúp các VSV chuyển hóa hữu cơ trong đất thành mùn humic tốt hơn việc sử dụng phân hóa học hòa tan nhanh.

- Dung tích hấp phụ (CEC): Theo dõi số liệu trung bình về dung tích hấp phụ trong đất của 8 công thức đạt mức trung bình khá (21,10 ldl/100 g đất đến 25,40 ldl/100 g đất), có sự sai khác nhưng không có ý nghĩa thống kê giữa các công thức so với đối chứng và trước khi bón phân. Kết quả phân tích này cao hơn so với số liệu trên đất trồng cà phê tại Đắk Nông (năm 1996 và năm 2006).

- Hàm lượng Ca^{2+} và Mg^{2+} : Phân tích hàm lượng Ca^{2+} và Mg^{2+} trong đất của các công thức sau một năm thí nghiệm nhận thấy có sự khác nhau giữa các công thức so với đối chứng. Tuy nhiên sự khác nhau này không ý nghĩa thống kê giữa nhóm công thức. Khi hàm lượng Mg^{2+} trao đổi trong đất tăng mà hàm lượng Ca^{2+} trao đổi không tăng thì cấu trúc của đất trở nên thô hơn và nếu tỉ lệ $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+} < 1$ thì cấu trúc đất không ổn định, nằm trong mức báo động. Trong đất của các công thức bón phân trước và sau thí nghiệm cho thấy tỉ lệ này đạt thấp nhất từ 1,10 (ND), cao nhất 1,56 (CT4). Như vậy, cấu trúc đất tại khu vực thí nghiệm vẫn giữ được sự ổn định.

- Hàm lượng đạm: hàm lượng dinh dưỡng trong đất trồng cà phê thời kỳ kinh doanh khá cao, hầu hết các chỉ tiêu dinh dưỡng đều ở mức dinh dưỡng trung bình cho đến giàu chất dinh dưỡng. Tuy nhiên, hàm lượng dinh dưỡng tổng số trong đất khá cao nhưng hàm lượng dinh dưỡng hòa tan trong đất thấp. Sau một năm thực hiện các công thức tích hợp cho thấy: hàm lượng N tổng số trong đất ở cả công thức tích hợp và đối chứng đều không có sự biến động nhiều. Hầu hết ở các công thức thí nghiệm thì hàm lượng N tổng số bằng hoặc giảm nhẹ so với ban đầu, tuy nhiên ở các công thức đối chứng hàm lượng N tổng số có xu hướng tăng. Ngược lại, hàm lượng N dễ tiêu trong mô hình tăng hơn so với đối chứng. Do ở mô hình thí nghiệm đã giảm đi 35% phân bón hóa học, trong đó đã giảm đi đáng kể lượng phân đạm bón cho cây vì thế N tổng số trong đất giảm nhẹ. Tuy nhiên ở các công thức thí nghiệm áp dụng tích hợp các chế phẩm VSV đã bổ sung vào đất một hệ VSV có khả năng cố định làm cho quá trình chuyển hóa đạm trong đất tăng lên nên N tổng số trong đất giảm nhưng hàm lượng nito dễ tiêu tăng cao so với các công thức đối chứng.

- Hàm lượng phospho tổng số trong đất trước thí nghiệm rất cao, đạt 2,32%, cao hơn rất nhiều so với các tài liệu công bố ở trong nước cũng như chỉ tiêu về dinh dưỡng trong đất trồng. Sau thí nghiệm, hàm lượng lân tổng số thấp hơn trước thí nghiệm. Ngược lại, hàm lượng phospho hòa tan trong đất trước thí nghiệm thấp hơn rất nhiều sau thí nghiệm.

Chứng tỏ, sau một chu trình bón phân hữu cơ, bổ sung các chế phẩm sinh học cho cà phê, hàm lượng phospho được giải phóng trong đất nhiều hơn nên hàm lượng dinh dưỡng cao hơn trước thời điểm chưa áp dụng bón chế phẩm phân hữu cơ vi sinh POLYFA TN3 và chế phẩm vi sinh CAFE HTD-01.

Bảng 3.6.19. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến các chỉ tiêu dinh dưỡng đất

Công thức	Chất tổng số (%)			Chất dễ tiêu (mg/100g đất)		
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Trước TN	0,198 ± 0,01 ^{ns}	2,32 ± 0,11 ^{ns}	0,16 ± 0,014 ^{ns}	17,90 ± 1,3 ^{ns}	23,57 ± 2,1 ^{ns}	10,80 ± 1,0 ^{ns}
CT1	0,195 ± 0,012	1,91 ± 0,13	0,18 ± 0,014	22,57 ± 1,7	26,71 ± 1,8	17,5 ± 1,2
CT2	0,197 ± 0,013	1,89 ± 0,14	0,17 ± 0,016	22,41 ± 2,8	26,21 ± 1,9	15,8 ± 1,4
CT3	0,198 ± 0,014	1,90 ± 0,12	0,16 ± 0,019	21,38 ± 2,3	26,32 ± 2,7	16,3 ± 1,7
CT4	0,198 ± 0,017	1,91 ± 0,18	0,18 ± 0,014	23,89 ± 1,9	27,76 ± 2,8	18,0 ± 1,8
CT5	0,198 ± 0,019	1,90 ± 0,15	0,17 ± 0,017	23,50 ± 3,1	26,90 ± 2,4	17,2 ± 1,5
CT6	0,197 ± 0,013	1,91 ± 0,19	0,16 ± 0,018	23,4 ± 2,5	26,7 ± 2,9	17,5 ± 1,8
ĐC1	0,20 ± 0,017	1,93 ± 0,15	0,18 ± 0,015	19,8 ± 1,9	23,9 ± 2,1	11,5 ± 1,1
ĐC2	0,21 ± 0,014	1,94 ± 0,14	0,18 ± 0,019	20,5 ± 1,6	23,7 ± 1,8	11,6 ± 1,2

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm hết thúc thí nghiệm.

- Hàm lượng kali tổng số và dễ tiêu: Hàm lượng kali tổng số trong đất của các công thức bón các công thức có sự sai khác nhưng không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này phù hợp với thực tế lượng phân kali được bón theo đúng quy trình của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ở tất cả 6 công thức thí nghiệm nên sự khác biệt là không rõ. Hàm lượng kali dễ tiêu tăng mạnh ở các công thức thí nghiệm so với công thức đối chứng. Điều này cho thấy áp dụng tích hợp các chế phẩm sinh học, bổ sung VSV có lợi và phân hữu cơ đã ủ hoại mục nên tăng hàm lượng hữu cơ, hàm lượng mùn đặc biệt là hàm lượng acid humic trong đất, làm gia tăng khả năng trao đổi cation và anion trong đất trong đó có ion K⁺.

Những kết quả này cho thấy, giảm lượng phân vô cơ N,P không ảnh hưởng hàm lượng chất dinh dưỡng tổng số trong đất nhưng có tác động tích cực đến hàm lượng chất dinh dưỡng dễ tiêu, pH_{KCl}, EC theo hướng có lợi cho sinh trưởng của cây cà phê.

Chỉ tiêu sinh học đất

Kiểm tra sự biến động mật độ trước và sau thí nghiệm của 3 nhóm nấm *Penicillium* sp., *Aspergillus* và *Trichoderma* (nhóm nấm có khả năng đối kháng với các chủng VSV gây bệnh, được bổ sung vào đất qua chế phẩm CAFE HTD-01, POLYFA TN3); nhóm VSV cố định đạm VK tổng số thuộc các chi *Bacillus*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Azospirillum* (nhóm các VK có khả năng phân giải lân, cố định đạm...) đã bổ sung vào mô hình dưới dạng các chế phẩm sinh học (CAFE HTD-01, POLYFA TN3...). Kết quả tổng hợp trong bảng 3.6.20:

Bảng 3.6.20. Biến động VSV có lợi trong đất trước và sau thí nghiệm

Công thức	Nhóm VK cố định đạm			Nhóm VSV phân giải lân (10 ³ CFU /g)	Nhóm VSV đối kháng với chủng VSV gây bệnh		
	<i>Acetobacter</i> (10 ² CFU/g)	<i>Azotobacter</i> (10 ³ CFU/g)	<i>Azospirillum</i> (10 ² CFU/g)		<i>Aspergillus</i> (10 ² CFU /g)	<i>Trichoderma</i> (10 ² CFU /g)	<i>Penicillium</i> (10 ² CFU /g)
Trước TN	2	0	6,40	6	3,0	8	1,5
CT1	68	2,1	85	95	90	90	40
CT2	70	1,9	69	82	83	78	35
CT3	62	1,4	57	83	75	89	20
CT4	69	1,8	79	93	89	110	68
CT5	54	2,0	95	75	54	60	55
CT6	60	2,2	85	88	80	85	68
ĐC1	1,8	0	6,8	7,6	3,5	20	13
ĐC2	1,5	0	6,9	6,8	3,0	15	4

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước khi bắt đầu thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Nhóm *Azotobacter* cố định đạm, tạo IAA giúp hệ rễ sinh trưởng tốt hơn trước. Trước khi thực hiện thí nghiệm không thấy có sự tồn tại của nhóm VK này trong mẫu đất được kiểm tra. Sau thí nghiệm, mẫu đất ở công thức thí nghiệm thấy sự xuất hiện nhóm VK *Azotobacter* là do sự bổ sung chế phẩm sinh học có chứa nhóm VK này. Như vậy, nhóm VK này đã thích ứng được với đất trồng cà phê Tây Nguyên.

Nhóm *Azospirillum* trước khi thực hiện thí nghiệm thấy có sự tồn tại của nhóm VK này với số lượng thấp khoảng 6,4.10² CFU/g. Sau khi tiến hành thí nghiệm, số lượng nhóm VK này gần như không có sự biến động ở công thức ĐC1 và ĐC2. Nhờ sự bổ sung thêm chế phẩm sinh học chứa nhóm VK này nên số lượng nhóm VK này tăng đáng kể là 57÷85.10² CFU/g ở các công thức thí nghiệm.

Nhóm *Acetobacter* trước thực hiện thí nghiệm, nhóm VK này tồn tại ở đất được kiểm tra với số lượng thấp đạt 2.10^2 CFU/g. Sau khi triển khai mô hình số lượng nhóm VK này gần như không có sự biến động ở mẫu ĐC1 và ĐC2. Nhờ sự bổ sung thêm chế phẩm sinh học chứa nhóm VK này nên số lượng nhóm VK này tăng lên đạt $54.10^2 \div 72.10^3$ CFU/g. Kết quả đánh giá nhóm VK phân giải lân trong các mẫu đất trồng cà phê cho thấy trước khi tiến hành thí nghiệm nhóm VK này tồn tại trong mẫu đất với số lượng khoảng 10^3 CFU/g. Sau thí nghiệm, số lượng nhóm VK này không có sự biến động ở cả mẫu ĐC1 và ĐC2. Nhờ sự bổ sung thêm chế phẩm sinh học chứa nhóm VK này nên số lượng nhóm VK này tăng đáng kể đạt $7,5 - 9,5.10^4$ CFU/g. Từ những kết quả thu được có thể thấy, việc kết hợp các chế phẩm sinh học đã mang lại hiệu quả góp phần cải tạo đất trồng cà phê đáp ứng được tiêu chí phát triển bền vững.

Bảng 3.6.21. Kết quả biến động nhóm vật sinh có hại trong đất trước và sau thí nghiệm

Công thức	<i>Fusarium</i> (CFU/gam đất)	<i>Colletotrichum</i> (CFU/gam đất)	<i>Pratylenchus</i> (cá thể/gam đất)	<i>Meloidogyne</i> (cá thể/gam đất)
Trước TN	670	120	67	84
CT1	35	15	12	21
CT2	55	17	14	13
CT3	45	21	16	18
CT4	34	14	15	13
CT5	27	12	12	12
CT6	25	16	15	14
ĐC1	550	110	63	89
ĐC2	660	140	96	110

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước khi bắt đầu thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

b. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng một số chất trong lá cà phê

Hàm lượng đạm và kali là 2 yếu tố quan trọng nhất chi phối năng suất cây cà phê. Thí nghiệm tiến hành đánh giá hàm lượng đạm, kali và hàm lượng lân trong lá cây ở các công thức khác nhau.

- Hàm lượng đạm: hàm lượng đạm trong lá cà phê của các công thức thí nghiệm có sự khác nhau. Tuy nhiên, sự sai khác này không ý nghĩa thống kê giữa các cặp công thức còn lại. Để đạt năng suất từ 3 - 4 tấn nhân/ha/năm hàm lượng đạm trong lá tối ưu là 3,05 đến 3,28% và trên 3,28% sẽ xảy ra hiện tượng thừa đạm. Kết quả phân tích về hàm lượng

đạm trong lá cà phê cho thấy ở các công thức giảm lượng đạm 25% - 35% vẫn cho tỷ lệ đạm trong lá đạt tối ưu. Trong khi ở công thức ĐC có hiện tượng thừa đạm nhẹ.

- Hàm lượng lân: hàm lượng lân trong lá ở các công thức có sai khác, tuy nhiên sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê. Trong nghiên cứu này, hàm lượng lân nằm trong khoảng 0,15 - 0,17. Điều này cho thấy, các công thức thí nghiệm sử dụng lượng phân lân giảm 25% - 35% chưa ảnh hưởng đến hàm lượng lân trong lá, đến năng suất lá.

- Hàm lượng kali: - Hàm lượng kali: hàm lượng lân trong lá ở các công thức có sai khác, tuy nhiên sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này cho thấy các công thức thí nghiệm sử dụng lượng phân kali giảm 25% - 35% chưa ảnh hưởng đến hàm lượng kali trong lá, đến năng suất lá .

Bảng 3.6.22. Biến động hàm lượng một số chất dinh dưỡng trong lá

Công thức	Hàm lượng đạm (%)	Hàm lượng lân (%)	Hàm lượng kali (%)
Trước thí nghiệm	3,05 ± 0,12	0,15 ± 0,013	1,7 ± 0,11
CT1	3,10 ± 0,20 ^{ns}	0,16 ± 0,012 ^{ns}	1,8 ± 0,08 ^{ns}
CT2	3,10 ± 0,14	0,15 ± 0,014	1,9 ± 0,09
CT3	3,05 ± 0,13	0,15 ± 0,013	1,88 ± 0,05
CT4	3,20 ± 0,21	0,17 ± 0,017	1,82 ± 0,04
CT5	3,17 ± 0,30	0,15 ± 0,013	1,8 ± 0,12
CT6	3,14 ± 0,12	0,15 ± 0,018	1,75 ± 0,08
ĐC1	3,32 ± 0,20	0,16 ± 0,015	1,9 ± 0,10
ĐC2	3,45 ± 0,21	0,16 ± 0,017	1,85 ± 0,12

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước bón phân (tháng 5, 7 và 9/2018). CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm 30 ngày sau bón phân. ns: Sai khác không có ý nghĩa

c. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng các sắc tố quang hợp, sinh trưởng phát triển cây cà phê

- Diệp lục a: Số liệu phân tích về hàm lượng diệp lục a trong lá cà phê các công thức thí nghiệm cho thấy: hàm lượng diệp lục a ở các công thức thí nghiệm có sai khác không có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy giảm lượng phân bón không ảnh hưởng tới hàm lượng diệp lục a.

- Diệp lục b: Hàm lượng diệp lục b ở các công thức khác nhau dao động từ 0,98 mg/g lá tươi (đối chứng) đến 1,08mg/g lá tươi ở công thức bón phân (CT5). Sự sai khác về hàm lượng diệp lục b trong lá cà phê với giai đoạn kinh doanh ở công thức thí nghiệm không có ý nghĩa thống kê.

- Carotenoid: ở các công thức thí nghiệm mặc dù giảm 25% -35% phân N P K không ảnh hưởng tới hàm lượng carotenoid. Sự sai khác ở các công thức thí nghiệm không có ý nghĩa thống kê.

Khi bón phân vô cơ giảm 25% -35% cho cây cà phê với giai đoạn kiến thiết, sự sai khác về các chỉ tiêu diệp lục không có ý nghĩa thống kê. Như vậy, ở các công thức giảm lượng phân bón hóa học không ảnh hưởng đến các sắc tố quang hợp.

Bảng 3.6.23. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng diệp lục trong lá cà phê giai đoạn kiến thiết

Công thức	Diệp lục a (mg/g lá tươi)	Diệp lục b (mg/g lá tươi)	Carotenoid (mg/g lá tươi)
Trước thí nghiệm	1,82 ± 0,11	0,91 ± 0,03	0,98 ± 0,07
CT1	2,18 ± 0,12 ^{ns}	0,96 ± 0,05 ^{ns}	1,04 ± 0,05 ^{ns}
CT2	2,12 ± 0,14	0,97 ± 0,06	1,01 ± 0,08
CT3	2,08 ± 0,16	0,96 ± 0,07	1,02 ± 0,06
CT4	2,02 ± 0,17	0,98 ± 0,04	1,03 ± 0,08
CT5	2,03 ± 0,21	0,97 ± 0,09	1,00 ± 0,03
CT6	2,10 ± 0,21	0,97 ± 0,04	1,02 ± 0,07
ĐC1	1,83 ± 0,15	0,95 ± 0,07	0,99 ± 0,04
ĐC2	1,78 ± 0,13	0,93 ± 0,04	1,00 ± 0,03

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước bón phân (tháng 5, 7 và 9/2018). CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm 30 ngày sau bón phân

Ảnh hưởng của công thức tích hợp đến sinh trưởng, phát triển cây cà phê

Bảng 3.6.24. Chỉ tiêu sinh trưởng cây cà phê kinh doanh trong các công thức tích hợp

Công thức	Số cành mới hữu dụng	Trung bình số cặp lá mới mọc/cành (tháng 3 - 8/2018)	Sự tăng trưởng chiều dài cành (cm) (tháng 3 - 8/2018)
CT1	39,352 ± 2,5 ^{ab}	6,91 ± 0,4 ^{ab}	31,17 ± 2,8 ^a
CT2	37,969 ± 3,1 ^{ab}	6,76 ± 0,3 ^{ab}	29,41 ± 2,4 ^a
CT3	37,479 ± 2,6 ^{ab}	6,90 ± 0,4 ^{ab}	29,91 ± 2,1 ^a
CT4	45,472 ± 2,9 ^a	7,28 ± 0,9 ^a	30,24 ± 3,0 ^a
CT5	46,786 ± 3,1 ^a	7,24 ± 0,5 ^a	31,04 ± 2,9 ^a
CT6	53,215 ± 2,5 ^a	7,54 ± 0,9 ^a	30,86 ± 2,5 ^a

ĐC1	32,470 ± 4,1 ^b	6,03 ± 0,4 ^c	26,42 ± 2,8 ^b
ĐC2	33,777 ± 2,6 ^{ab}	6,79 ± 0,3 ^b	25,14 ± 2,3 ^c

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; ns: Sai khác không có ý nghĩa

Sau một năm thử nghiệm các công thức tích hợp, một số chỉ tiêu sinh trưởng phát triển của cây cà phê thể hiện bảng 3.6.24. Chiều dài cành phát triển trên cây cà phê thời kỳ kinh doanh có sự thay đổi khác nhau giữa các công thức thí nghiệm. Kết quả cho thấy, ở công thức 4, 5 và 6, chiều dài cành phát triển cao hơn hẳn công thức thí nghiệm 1, 2, 3 và công thức đối chứng. Chứng tỏ công thức sử dụng công thức phân bón giảm đi 25% - 35% lượng phân bón hóa học, thay thế phân nhả chậm và bổ sung phân bón hữu cơ vi sinh POLYFA TN3, CAFE-HTD-01 có tác dụng thúc đẩy sự hình thành chồi, cành mới trên cà phê thời kỳ kinh doanh.

Trung bình số cặp lá mới mọc/cành của cây cà phê thời kỳ kinh doanh có sự thay đổi khác nhau giữa các công thức thí nghiệm. Ở công thức 4, 5 và 6, trung bình số cặp lá mới mọc/cành hình thành mới cao hơn hẳn các công thức thí nghiệm ĐC, ND nhưng không có sự khác biệt so với các công thức còn lại. Chứng tỏ công thức sử dụng công thức phân bón giảm đi 25% - 35% lượng phân bón hóa học, thay thế phân nhả chậm và bổ sung phân bón hữu cơ vi sinh POLYFA TN3, CAFE-HTD-01 có tác dụng thúc đẩy kích thích hình thành cặp lá mới trên cà phê thời kỳ kinh doanh.

Sự tăng trưởng chiều dài cành có sự thay đổi khác nhau giữa các công thức thí nghiệm, trong đó sự tăng trưởng chiều dài cành ở các công thức thí nghiệm luôn cao hơn công thức đối chứng. Ở công thức 1, 5 và 6, sự tăng trưởng chiều dài cành cao hơn hẳn các công thức thí nghiệm ĐC, ND nhưng không có sự khác biệt so với các công thức còn lại. Chứng tỏ công thức sử dụng công thức phân bón giảm đi 25% - 35% lượng phân bón hóa học, thay thế phân nhả chậm và bổ sung phân bón hữu cơ vi sinh POLYFA TN3, CAFE-HTD-01 có tác dụng thúc đẩy kích thích sự tăng trưởng về chiều dài cành trên cà phê thời kỳ kinh doanh.

Như vậy, khi giảm đi lượng phân bón hóa học, thay thế phân bón nhả chậm và bổ sung các chế phẩm sinh học sẽ làm cân bằng dinh dưỡng, giúp cây hấp thụ dinh dưỡng tốt hơn và thúc đẩy hình thành cành thứ cấp nhiều hơn, số cặp lá mới mọc/cành cao hơn và sự tăng trưởng chiều dài cành lớn hơn so với việc công thức ĐC và ND. Điều này có thể được giải thích như sau: thứ nhất, phân bón nhả chậm được sử dụng thay thế phân bón vô cơ thông thường sẽ giúp chất dinh dưỡng được giải phóng ra từ từ, kéo dài thời gian tan ra

trong môi trường lâu hơn. Các loại phân bón nhả chậm được cung cấp cho cây cà phê có thời gian nhả chậm trung bình 3 – 6 tháng. Hàm lượng các nguyên tố nhả ra trung bình trong thời gian trên đảm bảo cung cấp dinh dưỡng liên tục cho cây trồng giúp cây phát triển ổn định. Nhờ đó, phân bón nhả chậm giúp tiết kiệm một lượng phân bón, góp phần giảm chi phí đầu tư trong canh tác cây trồng. Thứ 2, khi giảm lượng phân bón vô cơ, bổ sung thay thế bằng các chế phẩm sinh học (chế phẩm CAFE HTD-01, POLYFA TN3) là các dạng phân bón hữu cơ vi sinh sẽ thúc đẩy sự phát triển của hệ vi sinh vật đất, phân giải các chất cây trồng khó hấp thu thành dạng dễ hấp thu cho cây trồng, tổng hợp một số chất dinh dưỡng cho cây trồng, không chế các mầm bệnh tồn tại trong đất, nâng cao hiệu quả sử dụng và hấp thu phân bón. Bên cạnh đó, chế phẩm sinh học bổ sung vào các công thức thí nghiệm cung cấp một lượng lớn chất hữu cơ và mùn (phân bón cải tạo đất POLYFA TN3). Các chất này có tác dụng cải thiện trạng thái kết cấu đất, các keo mùn gắn các hạt đất với nhau tạo thành những hạt kết tốt, bền vững, từ đó ảnh hưởng đến toàn bộ hóa, lý tính của đất như tính thấm và giữ nước tốt hơn, sự hấp thu nhiệt và giữ nhiệt tốt hơn, chất hữu cơ xúc tiến các phản ứng hoá học, cải thiện điều kiện oxy hoá, gắn liền với sự di động và kết tủa của các nguyên tố vô cơ trong đất. Nhờ có nhóm định chức các hợp chất mùn nói riêng, chất hữu cơ nói chung làm tăng khả năng hấp phụ của đất, giữ được các chất dinh dưỡng, đồng thời làm tăng tính đệm của đất.

d. Yếu tố cấu thành năng suất và năng suất cà phê

Các chỉ tiêu như tỷ lệ cành mang quả, tỷ lệ chùm quả trên cành, số quả trên chùm là những yếu tố cấu thành năng suất quả. Vì vậy, để xác định năng suất cây cà phê Kinh doanh ở các công thức thí nghiệm, các chỉ tiêu cấu thành năng suất đã được xác định. Kết quả thể hiện ở bảng 3.6.25. như sau:

Bảng 3.6.25. Các chỉ tiêu cấu thành năng suất và năng suất cà phê thời kỳ kinh doanh

Công thức	Số cành mang quả	Số chùm quả/cành	Số quả/chùm	Tỷ lệ rụng quả (%)	NSTT (tấn/ha)	NS nhân (tấn/ha)
CT1	32,15 ± 2,8 ^{ab}	14,01 ± 1,2 ^a	191,30 ± 8,4 ^{bc}	25,2 ± 1,3 ^c	18,75 ^{ab}	4,69 ^{ab}
CT2	30,30 ± 2,7 ^{ab}	12,05 ± 1,1 ^{ab}	212 ± 9,5 ^b	25,0 ± 1,6 ^c	18,57 ^{ab}	4,56 ^{ab}
CT3	32,60 ± 2,9 ^{ab}	12,9 ± 1,3 ^b	183,30 ± 11,2 ^{bc}	25,3 ± 2,1 ^c	19,67 ^a	4,67 ^a
CT4	34,30 ± 2,5 ^a	13,91 ± 1,4 ^{ab}	229 ± 12,1 ^a	23,8 ± 1,5 ^c	20,94 ^a	5,50 ^a
CT5	35,80 ± 2,7 ^a	13,13 ± 1,1 ^{ab}	178,8 ± 8,5 ^c	24,1 ± 1,8 ^c	21,19 ^a	5,48 ^a
CT6	33,45 ± 3,5 ^a	12,53 ± 1,5 ^b	195,8 ± 7,1 ^b	23,5 ± 1,9 ^c	21,57 ^a	5,42 ^a

ĐC1	30,5 ± 3,1 ^{ab}	12,41 ± 1,2 ^a	199,3 ± 9,7 ^b	29,7 ± 1,5 ^{ab}	15,83 ^b	3,88 ^b
ĐC2	27,5 ± 2,8 ^{bc}	12,54 ± 1,5 ^a	189,63 ± 11,3 ^c	30,5 ± 1,5 ^a	16,95 ^{ab}	3,95 ^{ab}

Ghi chú: Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; ns: Sai khác không có ý nghĩa

Kết quả bảng 3.6.25. cho thấy công thức 4, 5, 6 có số cành mang quả nhiều nhất, cao hơn so với cách chăm sóc của nông dân và các công thức thí nghiệm còn lại. Tuy nhiên, số chùm quả/cành cao nhất ở công thức 1, 4 và 5. Số quả trên cành cao nhất ở công thức 4, tiếp theo là công thức 2, cách chăm bón áp dụng qui trình bón phân của bộ nông nghiệp và phát triển nông thôn, công thức 6, 1, ND.

Tỷ lệ rụng quả là yếu tố quan trọng quyết định năng suất cây cà phê. Quả cà phê cũng như nhiều cây ăn quả khác có tỷ lệ rụng khá cao. Tỷ lệ rụng sẽ tác động mạnh tới năng suất. Một nghiên cứu khá đầy đủ về tỷ lệ rụng quả cà phê với cho thấy, các vườn bình thường có tỷ lệ rụng quả 35-40% số quả ban đầu. Thời gian mang quả cà phê khá dài (trên 10 tháng) càng có nhiều giai đoạn cho quả rụng. Lô thí nghiệm có tỷ lệ quả rụng thấp hơn đáng kể lô đối chứng 1 và 2.

Năng suất thực thu ở công thức 6 cao nhất, thấp nhất là công thức đối chứng. Các công thức thí nghiệm còn lại không có sự khác biệt thống kê so với công thức 6 và đối chứng. Như vậy, công thức 6 có hiệu quả nhất, cho năng suất cao nhất. Xét về mức độ hiệu quả kinh tế và sinh thái môi trường thì công thức 6 có hiệu quả nhất vì lượng phân bón hóa học sử dụng ít hơn, thay thế bằng phân nhả chậm và tích hợp sử dụng chế phẩm sinh học nên duy trì được tính đệm cho đất, duy trì và ổn định mật độ các VSV có lợi trong đất, giảm mật độ VSV có hại, giúp cải tạo đất, đặc biệt là tăng tỉ lệ H/F nên sẽ giúp cây trồng hấp thu dinh dưỡng tốt hơn, tăng sức đề kháng của cây trồng với các điều kiện bất lợi của môi trường.

e. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến tỷ lệ hạt cà phê nhân xuất khẩu

Chất lượng cà phê nhân phụ thuộc vào rất nhiều chỉ tiêu như: hàm lượng cafein, dư lượng thuốc BVTV, màu sắc, mùi vị... nhưng theo Tiêu chuẩn Quốc gia về chất lượng cà phê nhân xuất khẩu (TCVN 4193:2005) đối với cà phê vối thì kích cỡ nhân hạt cà phê trên sàng là một trong những chỉ tiêu rất quan trọng không những quyết định phần lớn đến chất lượng cà phê mà còn ảnh hưởng đến giá bán góp phần nâng cao giá trị cà phê xuất khẩu của Việt Nam. Vì vậy, trong nghiên cứu này chỉ đề cập đến chỉ tiêu kích cỡ hạt cà phê nhân

trên sàng, đặc biệt là trên sàng 18 (hạng đặc biệt) và trên sàng 16 (hạng 1). Theo tiêu chuẩn Quốc gia về chất lượng cà phê nhân xuất khẩu đối với cà phê vối thì cà phê hạng đặc biệt (với cỡ sàng S18/S16 có tỉ lệ khối lượng tối thiểu cà phê nhân trên sàng % đạt 90/10, có số lỗi tối đa là 30 trong 300g mẫu) và hạng 1 (với cỡ sàng S16/S13 có tỉ lệ khối lượng tối thiểu cà phê nhân trên sàng % đạt 90/10, có số lỗi tối đa là 90 trong 300g mẫu) mới đủ tiêu chuẩn xuất khẩu. Vì vậy, chỉ theo dõi ảnh hưởng của công thức tích hợp đến tỉ lệ % hạt cà phê trên sàng 16 (gồm cả tỉ lệ % hạt cà phê trên sàng 18 đạt hạng đặc biệt và hạng 1 để xuất khẩu - phụ biểu 3). Kích cỡ hạt cà phê nhân lớn hay nhỏ là đặc điểm di truyền của từng giống cà phê, các biện pháp canh tác như bón phân, tưới nước, thuốc BVTV... chỉ ảnh hưởng một phần đến kích cỡ hạt cà phê nhân chứ không ảnh hưởng nhiều như biện pháp giống mới. Khi theo dõi tỉ lệ % hạt cà phê trên sàng đủ tiêu chuẩn xuất khẩu trong các công thức tích hợp so với lượng phân bón theo quy trình của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tại bảng 3.6.26 cho thấy: Các công thức tích hợp đã làm tăng tỉ lệ % hạt cà phê nhân trên sàng >7,1 mm (hạng đặc biệt) và trên sàng >6,3 mm (hạng 1) dao động từ 35,48% (CT3) đến 37,64% (CT6).

Như vậy, sau năm thí nghiệm bón phân cho cà phê vối giai đoạn kinh doanh trên đất bazan quy trình tích hợp các chế phẩm sinh hóa học đồng thời giảm phân NPK so với quy trình của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã cải thiện được tỉ lệ hạt cà phê nhân xuất khẩu, đặc biệt có công thức 6 khi giảm 35% lượng N, P đã cải thiện được tỉ lệ hạt cà phê trên sàng 16.

Bảng 3.6.26. Ảnh hưởng của quy trình tích hợp đến tỷ lệ hạt cà phê nhân xuất khẩu

Công thức	Tỷ lệ % hạt cà phê nhân trên sàng		
	S18 (hạng đặc biệt) (>7,1mm)	S16 (hạng 1) (>6,3mm)	Tổng cộng
CT1	6,69	32,72	39,41
CT2	6,64	31,60	38,24
CT3	6,46	32,05	38,51
CT4	6,48	32,54	39,02
CT5	6,74	32,52	39,26
CT6	6,78	33,06	39,84
ĐC1	4,57	28,90	33,47
ĐC2	4,13	25,80	29,93

Ghi chú: Phân hạng chất lượng cà phê nhân áp dụng theo TCVN 4193:2005.

f. Diễn biến sâu bệnh hại

Trong năm thí nghiệm, tại ở các địa điểm thực hiện thí nghiệm và đối chứng chủ yếu xuất hiện 3 loại bệnh phổ biến trên cà phê đó là bệnh gỉ sắt, bệnh thán thư và bệnh đốm mắt cua với tỉ lệ cây bị hại cao lần lượt là 23,57%, 11,84% và 8,92%. Rệp muội gây hại với cấp hại 5 chiếm tỉ lệ 32,38% tổng số cây trong vườn bị rệp tấn công. Tỉ lệ một đực cành chiếm 1,82% số lượng cây trong vườn bị một gây hại. Nhưng ngược lại, trên vườn cà phê giai đoạn kinh doanh không bị sâu đục thân gây hại. Trong quá trình thực hiện thí nghiệm, tình hình xử lý thuốc BVTV hóa học ở các ô thí nghiệm và đối chứng như sau: ở mô hình thí nghiệm phun 1 lần thuốc BVTV hóa học để trừ bệnh gỉ sắt, trong khi đó ở mô hình đối chứng đã phun 3 lần thuốc BVTV hóa học để phòng trừ bệnh gỉ sắt, thán thư, tuyến trùng. Như vậy, mô hình thí nghiệm đã giảm 100% thuốc trừ sâu hóa học trong phòng trừ rệp sáp và 75% thuốc BVTV hóa học so với đối chứng.

Việc theo dõi các chỉ tiêu thí nghiệm được thực hiện hàng tháng. Kết quả ghi nhận các loại bệnh khác nhau vào các thời điểm khác nhau trong năm và được ghi chép vào thời điểm bắt đầu xuất hiện bệnh đến thời điểm sau áp dụng các biện pháp xử lý.

Diễn biến rệp sáp hại cà phê

Bảng 3.6.27. Ảnh hưởng của công thức tích hợp tới diễn biến rệp sáp trên cà phê giai đoạn kinh doanh

Công thức	Tỷ lệ cây bị rệp sáp (%)	Số con/cây
Trước TN	32,38	107,5
CT1	8	13,5
CT2	7	10,7
CT3	3	14,5
CT4	5	9,4
CT5	7	6,5
CT6	6	10,5
ĐC1	9	12,6
ĐC2	8	17,8

Trước TN: đánh giá tại các thời điểm 7 ngày trước khi bắt đầu thí nghiệm. CT1-6: đánh giá tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Từ kết quả bảng 3.6.27 cho thấy tỉ lệ cây cà phê bị rệp sáp có chiều hướng giảm mạnh tại thời điểm sau thí nghiệm so với thời điểm trước thí nghiệm ở các công thức thí nghiệm và công thức đối chứng. Đặc biệt, ở các công thức thí nghiệm chỉ sử dụng thuốc thảo mộc ANISAF SH01 không sử dụng thêm thuốc BVTV hóa học nào để phòng trừ rệp

sáp, mức độ gây hại ở cả tỷ lệ cây bị bệnh và số lượng con/cây giảm mạnh. Điều này chứng tỏ, việc sử dụng chế phẩm ANISAF SH01 có tác dụng diệt trừ và phòng ngừa hiệu quả rệp sáp hại cà phê.

Diễn biến bệnh hại cà phê

Bảng 3.6.28. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp tới diễn biến bệnh hại cà phê giai đoạn kinh doanh

Công thức	Tỷ lệ cây bị bệnh thán thư (%)	Tỷ lệ cây bị bệnh gỉ sắt (%)	Tỷ lệ cây bị đốm mắt cua (%)
Trước TN	23,57	11,84	8,92
CT1	8	3	2
CT2	9	2	2
CT3	5	2	3
CT4	7	2	3
CT5	6	1	4
CT6	7	3	3
ĐC1	15	9	6
ĐC2	11	7	5

Trước TN: đánh giá tại các thời điểm 7 ngày trước khi bắt đầu thí nghiệm. CT1-6: đánh giá tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

- Tỷ lệ cây bị bệnh thán thư giảm mạnh ở các công thức thí nghiệm và đều giảm nhẹ ở công thức bón phân của người dân và công thức ĐC1. Kết quả này cũng chứng minh được vai trò của việc sử dụng kết hợp bón phân cân đối, hợp lý, đồng thời kết hợp bổ sung tích hợp các chế phẩm sinh học có chứa VSV có lợi và VSV đối kháng nên đã làm giảm mật độ bào tử nấm gây bệnh thán thư, do đó sẽ làm ức chế và giảm mức độ phát triển lây lan của bệnh thán thư gây hại mặc dù không phun thuốc BVTV hóa học phòng trừ nấm như ở hai công thức đối chứng.

- Tỷ lệ cây bị bệnh gỉ sắt không cao và không có sự biến động lớn vào thời điểm trước thí nghiệm và vào thời điểm thu hoạch. Các công thức thí nghiệm đều có tỷ lệ cây bị bệnh gỉ sắt sau thí nghiệm thấp hơn trước thí nghiệm. Tuy nhiên, ở công thức đối chứng 2 có tỷ lệ cây bị bệnh gỉ sắt tăng nhẹ so với thời điểm trước thí nghiệm. Kết quả thí nghiệm cho thấy được vai trò của việc bón phân, tỷ lệ dinh dưỡng cho cà phê. Ở các công thức thí nghiệm, kể cả công thức của nông dân vào thời điểm thu hoạch đều có tỷ lệ bệnh gỉ sắt giảm hơn so với trước thí nghiệm. Điều này có thể giải thích, thứ nhất là do các công thức này bón cân đối NPK. Đối với công thức đối chứng, lượng phân bón chỉ tập trung vào phân đạm ure và kali chlorua. Đạm ure giúp cây phát triển mạnh về tán lá, hình thành mô non

nên làm giảm sức đề kháng, là môi trường thích hợp để các loài nấm bệnh gây hại. Thứ hai, việc bổ sung các chế phẩm sinh học ở các công thức thí nghiệm giúp bổ sung lượng lớn mật độ các VSV đối kháng nấm *Hemileia* gây bệnh gỉ sắt trong đất, tỉ lệ bệnh gỉ sắt trên cây giảm mạnh ở các công thức thí nghiệm mặc dù không phun thuốc diệt trừ nấm.

g. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hiệu quả kinh tế

Bảng 3.6.28. Sơ bộ thu nhập từ các ô thực hiện công thức thí nghiệm

Công thức	Năng suất (tấn/ha)	Thu nhập (1.000đ)	Thu nhập tăng chênh so với ĐC1	Thu nhập tăng chênh so với ĐC2
CT1	4,69	159.460	27.54	25.16
CT2	4,56	155.040	23.12	25.16
CT3	4,67	158.780	26.86	24.48
CT4	5,50	187.000	55.08	52.70
CT5	5,48	186.320	54.4	52.02
CT6	5,42	184.280	52.36	49.98
ĐC1	3,88	131.920		
ĐC2	3,95	134.300		

Ghi chú: giá bán cà phê 34 triệu đồng/tấn

Bảng 3.6.29. Chi phí tăng thêm khi sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho cà phê giai đoạn kinh doanh

DVT: 1.000 đ, cho 01 ha

Công thức	Chi thêm bón chế phẩm	Chi thêm công bón chế phẩm và thu hái	Chi giảm do giảm thuốc BVTV	Chi giảm do giảm phân hóa học	Chi giảm công phun thuốc BVTV	Chi phí tăng thêm so với ĐC*
1	2	3	4	5	6	8
CT1	29.800	2.500	16.500	7.500	1000	8.200
CT2	29.800	2.500	16.500	9.000	1000	5.700
CT3	29.800	2.500	16.500	10.500	1000	4.200
CT4	29.800	2.500	16.500	7.500	1.000	8.200
CT5	29.800	2.500	16.500	9.000	1.000	5.700
CT6	29.800	2.500	16.500	10.500	1.000	4.200

Ghi chú: giá phân bón POLYFA TN3: 4 triệu đồng/tấn; Anisaf SH01: 120.000 đồng/lít; CAFE HTD-01: 60.000đ/kg; công lao động 200.000 đ/công; giá bán cà phê 34 triệu đồng/tấn. Cột * tính bằng = cột 2 + cột 3 + cột 4 – cột 5 – cột 6

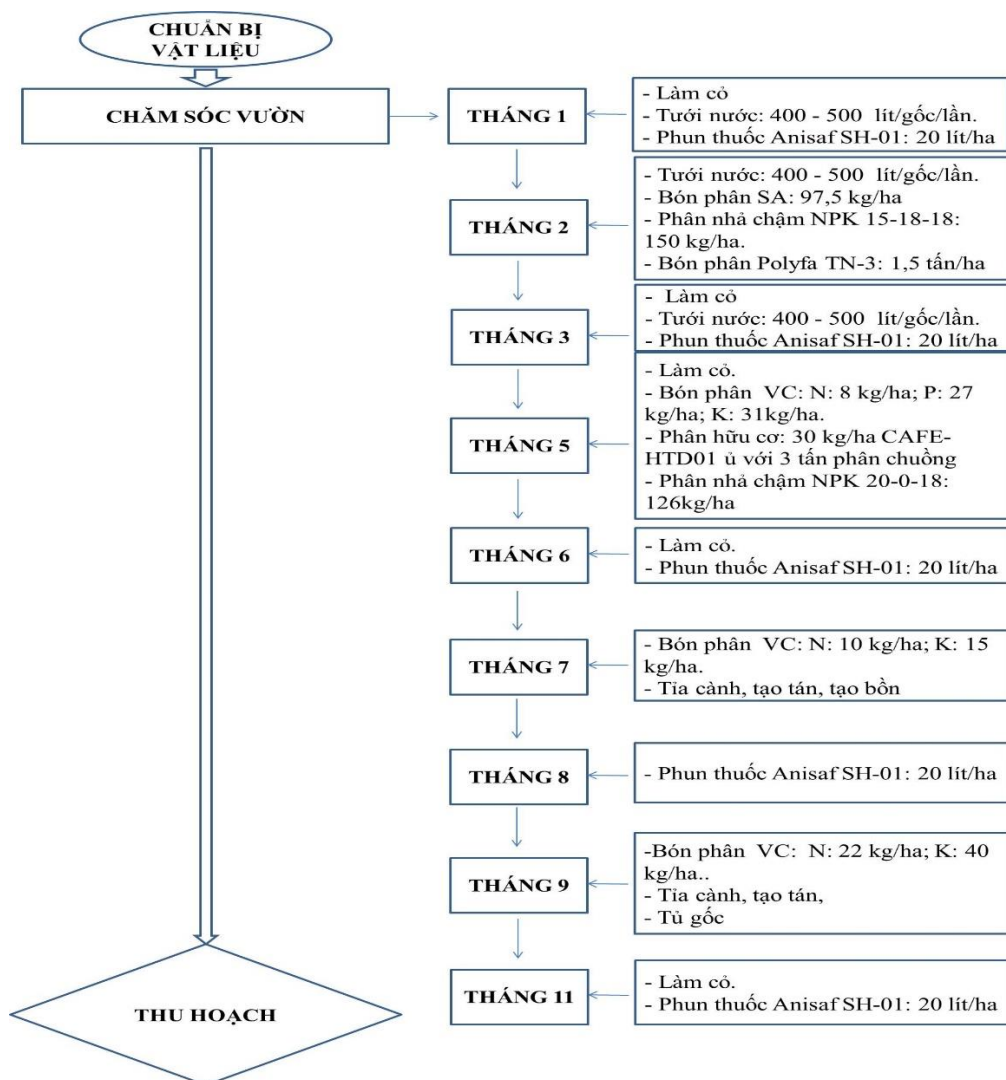
Như vậy, các công thức sử dụng tích hợp các chế phẩm sẽ phát sinh thêm chi phí tăng từ 4.200.000đ - 8.200.000đ. Trong khi đó, thu nhập tăng lên do tăng năng suất so với

ĐC1 dao động 23.120.000 - 55.080.000 đ, so với ĐC2 tăng dao động từ 24.480.000đ - 42.70.000đ.

Lợi nhuận lâu dài là khi sử dụng tích hợp các chế phẩm là cải thiện lý hóa đất đai theo hướng có lợi cho cây cà phê, hệ VSV có ích trong đất tăng, mật độ các chủng VSV bị ức chế giảm, bộ rễ cà phê phục hồi và tăng kích thích sinh trưởng số lượng rễ, qua đó giúp cây tăng khả năng kháng bệnh, tăng sinh trưởng cho những năm tiếp theo. Vì vậy, môi trường canh tác, năng suất và chất lượng cà phê được cải thiện theo hướng bền vững.

3.7.4.3. Đề xuất quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học trên cây cà phê giai đoạn kinh doanh

Căn cứ kết quả đã trình bày ở trên, đề xuất quy trình tích hợp các chế phẩm sinh hoá học bao gồm chế phẩm CAFE HTD-01, POLYFA TN3, phân bón nhả chậm NPK và thuốc trừ sâu sinh học ANISAF SH01 cho cây cà phê giai đoạn kinh doanh.



Hình 3.6.2. Sơ đồ quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho cây cà phê giai đoạn kinh doanh

Mô tả quy trình

• **Chuẩn bị nguyên vật liệu:**

a/ Chế phẩm CAFE HTD-01:

Chuẩn bị nguyên liệu:

- Phân hữu cơ đã hoai mục: 10 tấn
- NPK: 50kg
- Chế phẩm CAFE HTD-01: 30 kg
- Chế phẩm Trichoderma tinh: 2 kg

Cách ủ:

Hòa chế phẩm CAFE HTD- 01 vào 150 lít nước, để thời gian 3-5 tiếng đồng hồ cho tan đều.

Tiến hành ủ: Hỗn hợp phân hữu cơ (hoặc phân chuồng) + NPK + dung dịch chế phẩm CAFE HTD-01 được trộn đều. Tưới thêm nước bảo đảm đủ ẩm từ 50 - 60% (lấy một nắm bóp chặt thấy rỉ nước ra kẽ tay là được). Đánh đống, phủ bạt để giữ ẩm. Tuyệt đối không được nén chặt đống ủ (không dẫm đạp lên đống ủ).

Sau khi ủ 10 ngày thu được phân bón hữu cơ vi sinh có thể mang đi bón cho cây.

Chú ý:

- Không sử dụng nước máy để ủ.
- Phân vi sinh không trộn chung với phân chuồng chưa hoai mục.
- Không được phơi phân vi sinh dưới ánh nắng mặt trời (Khi trộn phải tiến hành nơi râm mát).

b/ Thuốc trừ sâu sinh học ANISAF SH01 :

Nồng độ tưới: 0,7%

Cách pha:

Lấy 700 ml thuốc ANISAF SH01 pha với 99,3 lít nước để được 100 lít thuốc đã pha.

Để pha 30 lít thuốc ANISAF SH01 cần pha với 4255 lít nước để được 4275 lít thuốc.

- **Chăm sóc vườn cây:**

Tháng 1:

Bước 1: Làm cỏ: Đối với cà phê kiến thiết cần làm sạch cỏ từ 3 - 4 lần/năm ở trên hàng cà phê; diện tích làm cỏ rộng ra ngoài tán cây cà phê mỗi bên 0,5 m. Đối với đất dốc, chỉ làm cỏ theo băng trên hàng cà phê, không làm cỏ toàn bộ diện tích.

Bước 2: Tưới nước:

- Chu kỳ tưới 20 - 25 ngày. Thời điểm tưới lần đầu được xác định khi mầm hoa đã phát triển đầy đủ ở các đọt ngoài cùng của cành, thông thường sau khi kết thúc mùa mưa 2 - 2,5 tháng (Tầm tháng 1 hàng năm). Trong vụ tưới cần theo dõi lượng mưa để điều chỉnh lượng nước hay chu kỳ tưới (lượng mưa 35 - 40 mm có thể thay thế cho 1 lần tưới).

- Cách thức, liều lượng tưới: Tưới gốc: 5000 - 600 lít/gốc/lần.

Bước 3: Phun thuốc ANISAF SH01 :

- Liều lượng: khoảng 3,8 lít/gốc, nồng độ: 0,7%

- Cách thức: Tưới phun vào cả cành, lá và gốc cây cà phê.

- Chú ý: Làm sạch lá, cỏ quanh phần gốc sẽ tưới thuốc để đảm bảo thuốc được ngấm trực tiếp xuống đất nơi có rễ cây, giúp cây có thể hút được thuốc; Tưới vào lúc râm mát. Không tưới thuốc vào lúc trời mưa hay quá nắng để đảm bảo cây hút thuốc được tốt nhất và tránh thuốc bị rửa trôi. Nếu gần thời gian tưới thuốc có kế hoạch bón phân thì nên tưới thuốc trước khi bón phân khoảng 5 ngày.

Bước 4: Bón phân POLYFA TN3:

- Liều lượng: 2 tấn/ha

- Cách bón: Phân được bón theo rãnh, được đào dọc theo một bên thành bồn 20 cm, sâu 25 - 30 cm, bón khoảng 1,8 kg phân/gốc cà phê, sau đó lấp đất lại.

Tháng 2:

Bước 1: Tưới nước:

- Cách thức, liều lượng tưới: tương tự tháng 1.

Bước 2: Bón phân SA:

- Liều lượng: 163 kg/ha

- Cách bón: Phân bón theo rãnh của hình chiếu tán cây, sau đó lấp đất lại.

Tháng 3:

Bước 1: Làm cỏ: cách thức làm cỏ tương tự tháng 1.

Bước 2: Tưới nước: cách thức, liều lượng tưới tương tự tháng 1.

Bước 3: Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

Tháng 5:

Bón phân:

Phân vô cơ: Bón phân khi đất đủ ẩm. Phân được bón vào rãnh hoặc vào hốc cách gốc 30 - 40 cm và lấp đất lại, không nên trộn phân lân với phân đạm. Phân vô cơ bón với liều lượng: Urê: 60 kg/ha, Lân nung chảy: 211 kg/ha, Kaliclorua: 103 kg/ha; Phân nhả chậm NPK: 176 kg/ha;

Phân hữu cơ ủ với chế phẩm CAFE HTD-01 và chế phẩm Trichoderma: Phân được bón theo rãnh, được đào dọc theo một bên thành bồn 20 cm, sâu 25 - 30 cm, bón khoảng 9 kg phân/gốc cà phê, sau đó thì lấp đất lại.

Tháng 6:

Bước 1: Làm cỏ: cách thức làm cỏ tương tự tháng 1.

Bước 2: Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

Tháng 7:

Bước 1: Tỉa cành, tạo tán:

- Đánh chồi thường xuyên 1 tháng/lần vào mùa mưa và 2 tháng/lần vào mùa khô: tiến hành tỉa thưa bớt các cành thứ cấp mọc ở các vị trí không thuận lợi (nằm sâu trong tán, mọc vượt, mọc chen chúc nhiều cành thứ cấp trên cùng một đốt) để cây được thông thoáng.

Bước 2: Tạo bồn: Bồn được mở rộng theo tán cây với độ sâu 15 - 20 cm.

Bước 3: Bón phân:

Phân vô cơ: liều lượng: Urê: 156 kg/ha, Kaliclorua: 156 kg/ha. Cách thức tương tự tháng 5.

Tháng 8:

Phun thuốc ANISAF SH01: cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

Tháng 9:

Bước 1: Tỉa cành, tạo tán: Tương tự tháng 7.

Bước 2: Tủ gốc bằng vật liệu hữu cơ như rơm rạ, cây phân xanh, tàn dư thực vật... Vật liệu tủ phải cách gốc 10 - 15 cm.

Bước 3: Bón phân:

Phân vô cơ: liều lượng: Urê: 117 kg/ha, Lân nung chảy: 208 kg/ha, Kaliclorua: 80 kg/ha. Cách thức tương tự tháng 5.

Tháng 11:

Bước 1: Làm cỏ: cách thức làm cỏ tương tự tháng 1.

Bước 2: Phun thuốc ANISAF SH01: cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

• Thu hoạch:

Thời điểm thu hoạch: Căn cứ vào tỷ lệ quả chín trên vườn, thường hái 3 đợt/ 1 vụ:

- Hái đợt 1: khi vườn có 20 - 25% quả chín.
- Hái đợt 2 khi chín rộ (trên 50% quả chín).
- Hái đợt 3 sau đợt 2 khoảng 20 ngày.

Kỹ thuật thu hái: Có 3 cách:

- (1) Hái chọn: Dùng tay lựa các quả chín để hái.
- (2) Hái tuốt: Dùng tay tuốt tất cả các chùm quả từ gốc cành ra phía ngọn cành.
- (3) Hái tuốt chọn: Dùng tay vặt những chùm có nhiều quả chín, chừa lại quả xanh trong chùm và trên cành.

Chú ý: Quả để chế biến ướt cần hái chọn hoặc tuốt chọn. Quả để chế biến khô có thể hái tuốt; tuy vậy nên tuốt chọn để tỷ lệ quả chín càng nhiều càng tốt.

Loại bỏ tạp chất và đóng bao

- Loại bỏ các tạp chất lá cây, cành khô trong đồng quả, sau đó dồn quả đầy bao rồi buộc/khâu kín miệng bao.

- Quét lượm quả rơi vãi ngoài đất, loại bỏ tạp chất và đem phơi riêng.

Vận chuyển và lưu giữ quả tươi:

- Vận chuyển quả về nơi chế biến ngay trong ngày.
- Không lưu giữ quả quá 12 giờ với cà phê chè hoặc quá 24 giờ với cà phê vối khi chế biến ướt; không quá 24 giờ khi chế biến khô, đặc biệt trong điều kiện nhiệt độ cao.
- Trường hợp chế biến không kịp, cần đổ quả trên nền khô ráo, sạch và thông thoáng, lớp quả không dày quá 30 cm và không lưu giữ quả quá 24 giờ.

Quy trình được sử dụng để xây dựng mô hình trình diễn ở nội dung tiếp theo.

3.7.5. Nghiên cứu xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học trên cây cà phê cuối giai đoạn kinh doanh

3.7.5.1. Đặc điểm vườn trước khi thực hiện thí nghiệm:

Vườn cà phê với 24 năm tuổi, đã cho thu hoạch và năng suất đạt trung bình là 3,0 tấn/ha, đang ở giai đoạn cảm ứng mầm hoa để ra hoa. Cây cao trung bình 1,8 m, số cành trung bình là 43 cành/cây. Tán lá cây phủ rộng 1,6 m. Cây xanh, không có triệu chứng của bệnh vàng lá cà phê. Khoảng cách trồng đồng đều nhau với 3,0 m x 3,0 m. Mật độ trung bình là 1110 cây/ha.

Đất trồng cà phê cuối giai đoạn kinh doanh có pH đất ở mức ít chua, thích hợp để trồng cà phê. Hàm lượng các chất hòa tan thấp. Hàm lượng hữu cơ trong đất ở mức trung bình, tuy nhiên chủ yếu là mùn chua với tỉ lệ H/F < 1. Hàm lượng nitơ tổng số nghèo, nitơ hòa tan ở mức trung bình. Hàm lượng lân tổng số và lân dễ tiêu trung bình, tuy nhiên đất nghèo kali. Trong đất xuất hiện 6 loại nấm, trong đó có 3 chủng nấm được xác định là gây hại cho cà phê, bao gồm nấm *Fusarium* sp., *Hemileia* sp., nấm *Colletotrichum* sp. Bên cạnh đó, trong đất cũng xuất hiện 2 nấm có lợi đó là nấm đối kháng *Penicillium* sp. và nấm *Trichoderma* sp. Mật độ tuyến trùng ký sinh tổng số trong đất là ở mức cao 189 cá thể/100cm³ đất, bao gồm tuyến trùng nốt sần *Meloidogyne* sp., *Pratylenchus* sp., *Tylenchus* sp.

Kết quả điều tra các loại bệnh tại vườn thí nghiệm cho thấy tại thời điểm ban đầu trên vườn giai đoạn sau kinh doanh xuất hiện 3 loại bệnh phổ biến trên cà phê là rệp sáp, gỉ sắt và thán thư với tỉ lệ cây bị hại cao lần lượt là 28,9%, 11,84% và 8,92%. Cấp hại của các loại bệnh ở mức dưới 50% số cành và lá có biểu hiện bệnh. Rệp muội gây hại với cấp hại 1, tương ứng chỉ dưới 25% số cành bị rệp muội gây hại. Tỉ lệ cây bị rệp muội và một đực cành không cao, chỉ chiếm 1,09% số cây trong vườn cà phê bị rệp muội và một đực cành gây hại.

3.7.5.2. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các công thức lên các chỉ số của vườn cà phê giai đoạn cuối kinh doanh

a. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu đất

Chỉ tiêu hóa tính đất

Để đánh giá ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu hóa tính đất tiến hành lấy mẫu đất trước thí nghiệm và 4 lần/năm sau khi bón phân 15 đến 20 ngày, phân tích và kết quả trung bình theo dõi được ghi nhận tại bảng 3.6.30.

Bảng 3.6.30. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu hóa tính của đất (tầng 0 – 30 cm)

Công thức	Các chỉ tiêu theo dõi				
	pH _{KCl}	Hữu cơ (%)	CEC (lđl/100g đất)	Ca ²⁺ (lđl/100g đất)	Mg ²⁺ (lđl/100g đất)
Trước TN	5,43 ± 0,12	4,15 ± 0,11	18,88 ± 1,3	2,89 ± 0,12	2,19 ± 0,11
CT1	5,96 ± 0,14 ^{ns}	4,67 ± 0,12 ^{ab}	24,35 ± 1,8 ^{ns}	3,01 ± 0,12 ^{ns}	2,22 ± 0,13 ^{ns}
CT2	5,87 ± 0,16	4,58 ± 0,13 ^{ab}	23,10 ± 1,9	3,08 ± 0,13	2,21 ± 0,17
CT3	5,95 ± 0,18	4,57 ± 0,12 ^{ab}	22,90 ± 1,4	2,95 ± 0,17	2,12 ± 0,12
CT4	5,51 ± 0,14	4,61 ± 0,15 ^b	23,40 ± 1,6	3,21 ± 0,16	2,20 ± 0,13
CT5	5,52 ± 0,18	4,58 ± 0,13 ^b	23,15 ± 2,1	3,13 ± 0,12	2,20 ± 0,11
CT6	5,57 ± 0,19	4,54 ± 0,16 ^b	22,08 ± 1,9	3,08 ± 0,19	2,19 ± 0,11
ĐC1	5,42 ± 0,12	4,13 ± 0,11 ^a	21,89 ± 1,7	2,87 ± 0,16	2,12 ± 0,14
ĐC2	5,33 ± 0,15	4,15 ± 0,17 ^a	21,20 ± 1,8	2,89 ± 0,22	2,08 ± 0,12

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm kết thúc thí nghiệm. Các chữ cái khác nhau trong hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; ns: Sai khác không có ý nghĩa

- Sau 1 năm thực hiện thí nghiệm, nhận thấy tất cả các công thức tích hợp đều có giá trị pH cao hơn so với ban đầu và có sự sai khác ở các công thức, tăng cao nhất ở công thức CT6 (4,63) và thấp nhất ở công thức đối chứng ND (4,45). Và ở ngưỡng pH thì các bón phân cũng như tích hợp các chế phẩm sinh hóa học và công thức ĐC1 đều thích hợp với sự phát triển của cà phê. Công thức giảm 25% - 35%, bổ sung thay thế bằng các chế phẩm sinh học có ảnh hưởng tích cực đến pH_{KCl} của đất.

- Hàm lượng hữu cơ: Kết quả phân tích hàm lượng hữu cơ cho thấy, ở tất cả các thí nghiệm và công thức đối chứng đều có hàm lượng tăng. Ở công thức thí nghiệm hàm lượng hữu cơ tổng số tăng cao hơn ở công thức đối chứng, và tăng mạnh nhất ở các công thức sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học (CT4-CT6), sự sai khác này có ý nghĩa thống kê so với công thức đối chứng. Kết quả này cho thấy, sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học, tăng cường bón phân hữu cơ, bổ sung VSV có lợi trong đất sẽ giúp quá trình chuyển hóa các chất hữu cơ trong đất thành mùn tốt hơn, các chất dinh dưỡng được giải phóng từ từ trong phân nhả chậm giúp các VSV chuyển hóa hữu cơ trong đất thành mùn humic tốt hơn việc sử dụng phân hóa học hòa tan nhanh.

- Dung tích hấp phụ (CEC): Theo dõi số liệu trung bình về dung tích hấp phụ trong đất của 8 công thức đạt mức trung bình khá (21,10 lđl/100 g đất đến 25,40 lđl/100 g đất),

có sự sai khác nhưng không có ý nghĩa thống kê giữa các công thức so với đối chứng và trước khi bón phân.

- Hàm lượng Ca^{2+} và Mg^{2+} : hàm lượng Ca^{2+} và Mg^{2+} trong đất của các công thức sau một năm thí nghiệm có sự khác nhau giữa các công thức so với đối chứng. Tuy nhiên sự khác nhau này không ý nghĩa thống kê giữa nhóm công thức. Trong đất của các công thức bón phân trước và sau thí nghiệm cho thấy tỉ lệ này đạt thấp nhất từ 1,10 (ND), cao nhất 1,56 (CT4). Như vậy cấu trúc đất tại khu vực thí nghiệm vẫn giữ được sự ổn định.

Bảng 3.6.31. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến các chỉ tiêu dinh dưỡng đất

Công thức	Chất dinh dưỡng tổng số (%)			Chất dinh dưỡng dễ tiêu (mg/100g đất)		
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Trước TN	0,198	2,32	0,16	17,90	23,57	10,80
CT1	0,195	1,91	0,18	22,57	26,71	17,5
CT2	0,197	1,89	0,17	22,41	26,21	15,8
CT3	0,198	1,90	0,16	21,38	26,32	16,3
CT4	0,198	1,91	0,18	23,89	27,76	18,0
CT5	0,198	1,90	0,17	23,50	26,90	17,2
CT6	0,197	1,91	0,16	23,4	26,7	17,5
ĐC1	0,20	1,93	0,18	19,8	23,9	15,5
ĐC2	0,21	1,94	0,18	20,5	23,7	12,6

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm kết thúc thí nghiệm. Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; ns: Sai khác không có ý nghĩa

Trước thí nghiệm hàm lượng các chất dinh dưỡng tổng số trong đất khá cao nhưng hàm lượng dinh dưỡng dễ tiêu lại thấp. Sau một năm thực hiện các công thức tích hợp cho thấy:

Hàm lượng nitơ: Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng N tổng số trong đất ở cả công thức tích hợp và đối chứng đều không có sự biến động nhiều. Hầu hết ở các công thức thí nghiệm thì hàm lượng N tổng số bằng hoặc giảm nhẹ so với ban đầu, tuy nhiên ở các công thức đối chứng hàm lượng N tổng số có xu hướng tăng. Ngược lại, hàm lượng N dễ tiêu trong mô hình tăng hơn so với đối chứng. Do ở mô hình thí nghiệm đã giảm đi 35% phân bón hóa học, trong đó đã giảm đi đáng kể lượng phân đạm bón cho cây vì thế N tổng số trong đất giảm nhẹ. Tuy nhiên ở các công thức thí nghiệm áp dụng tích hợp các chế phẩm VSV đã bổ sung vào đất một hệ VSV có khả năng cố định làm cho quá trình chuyển hóa đạm trong đất tăng lên nên N tổng số trong đất giảm nhưng hàm lượng nito dễ tiêu tăng cao so với các công thức đối chứng.

- Hàm lượng phospho tổng số trong đất trước thí nghiệm rất cao, đạt 2,32%, cao hơn rất nhiều so với các tài liệu công bố ở trong nước cũng như chỉ tiêu về dinh dưỡng trong đất trồng. Sau thí nghiệm, hàm lượng lân tổng số thấp hơn trước thí nghiệm. Ngược lại, hàm lượng phospho hòa tan trong đất trước thí nghiệm thấp hơn rất nhiều sau thí nghiệm. Chứng tỏ, sau một chu trình bón phân hữu cơ, bổ sung các chế phẩm sinh học cho cà phê, hàm lượng phospho được giải phóng trong đất nhiều hơn nên hàm lượng dinh dưỡng cao hơn trước thời điểm chưa áp dụng bón chế phẩm phân hữu cơ vi sinh POLYFA TN3 và chế phẩm vi sinh CAFE HTD-01.

- Hàm lượng kali tổng số và dễ tiêu: Hàm lượng kali tổng số trong đất của các công thức bón các công thức có sự sai khác nhưng không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này phù hợp với thực tế lượng phân kali được bón theo đúng quy trình của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ở tất cả 6 công thức thí nghiệm nên sự khác biệt là không rõ. Hàm lượng kali dễ tiêu tăng mạnh ở các công thức thí nghiệm so với công thức đối chứng. Điều này cho thấy áp dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học, bổ sung VSV có lợi và phân hữu cơ đã ủ hoại mục nên tăng hàm lượng hữu cơ, hàm lượng mùn đặc biệt là hàm lượng acid humic trong đất, làm gia tăng khả năng trao đổi cation và anion trong đất trong đó có ion K^+ .

Những kết quả này cho thấy, giảm lượng phân vô cơ NPK không ảnh hưởng hàm lượng chất dinh dưỡng tổng số trong đất nhưng có tác động tích cực đến hàm lượng chất dinh dưỡng dễ tiêu, pH_{KCl} , EC theo hướng có lợi cho sinh trưởng của cây cà phê.

Chỉ tiêu sinh học đất

Việc sử dụng quá nhiều phân bón và thuốc BVTV hóa học làm ảnh hưởng lớn đến hệ sinh thái đất trồng cà phê đặc biệt là khu hệ VSV. Mô hình sử dụng chế phẩm vi sinh để phân hủy các chất phế thải từ quá trình vệ sinh đồng ruộng (cành, lá già, lá bị sâu bệnh, cỏ dại...) vừa cung cấp lại chất mùn cho cây cà phê vừa có tác dụng diệt các mầm bệnh do khi ủ với chế phẩm vi sinh, nhiệt độ đồng ruộng tăng cao (50-70°C). Đồng thời khi sử dụng chế phẩm VSV chức năng CAFE HTD-01, phân bón vi sinh cải tạo đất POLYFA TN3 đã bổ sung cho đất hệ VSV có ích như VSV cố định đạm, VSV phân giải lân và các VSV sinh chất kích thích sinh trưởng cũng như VSV đối kháng với bệnh hại cà phê. Trong phần khảo sát này, kiểm tra sự biến động mật độ trước và sau thí nghiệm của 2 nhóm nấm *Penicillium* sp. và *Trichoderma* (nhóm nấm có khả năng đối kháng với các chủng VSV gây bệnh, được

bổ sung vào đất qua chế phẩm CAFE HTD-01, POLYFA TN3); nhóm VSV cố định đạm VK tổng số thuộc các chi *Bacillus*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Azospirillum* (nhóm các VK có khả năng phân giải lân, cố định đạm...) đã bổ sung vào mô hình dưới dạng các chế phẩm sinh học (CAFE HTD-01, POLYFA TN3...).

Bảng 3.6.32. Biến động VSV có lợi trong đất trước và sau thí nghiệm

Công thức	Nhóm VK cố định đạm			Nhóm VSV phân giải lân (10 ⁴ CFU /g)	Nhóm VSV đối kháng với chủng VSV gây bệnh		
	<i>Acetobacter</i> (10 ² CFU/g)	<i>Azotobacter</i> (10 ² CFU/g)	<i>Azospirillum</i> (10 ¹ CFU/g)		<i>Aspergillus</i> (10 ² CFU /g)	<i>Trichoderma</i> (10 ³ CFU /g)	<i>Penicillium</i> (10 ² CFU /g)
Trước TN	2	0	15	7	45	8	2,5
CT1	110	31	125	8,5	96	78	45
CT2	108	24	118	102	85	89	36
CT3	120	26	125	87	104	215	46
CT4	115	27	96	97	100	206	63
CT5	98	43	98	74	89	187	54
CT6	108	25	99	88	96	130	62
ĐC1	2,3	0	25	7,6	45	54	14
ĐC2	2,1	0	32	6,8	24	34	8

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Nhóm *Azotobacter* cố định đạm, tạo IAA giúp hệ rễ sinh trưởng tốt hơn trước. Trước khi thực hiện thí nghiệm không thấy có sự tồn tại của nhóm VK này trong mẫu đất được kiểm tra. Sau thí nghiệm, mẫu đất ở công thức thí nghiệm thấy sự xuất hiện nhóm VK *Azotobacter* là do sự bổ sung chế phẩm sinh học có chứa nhóm VK này. Như vậy, nhóm VK này đã thích ứng được với đất trồng cà phê Tây Nguyên.

Nhóm *Azospirillum* trước khi thực hiện thí nghiệm thấy có sự tồn tại của nhóm VK này với số lượng thấp khoảng 150 CFU/g. Sau khi tiến hành thí nghiệm, số lượng nhóm VK này gần như không có sự biến động ở công thức ĐC1 và ĐC2. Nhờ sự bổ sung thêm chế phẩm sinh học chứa nhóm VK này nên số lượng nhóm VK này tăng đáng kể là $96 \div 125 \cdot 10^1$ CFU/g ở các công thức thí nghiệm.

Nhóm *Acetobacter* trước thực hiện thí nghiệm, nhóm VK này không tồn tại ở đất được kiểm tra với số lượng thấp đạt 150 CFU/g. Sau khi triển khai mô hình số lượng nhóm VK này gần như không có sự biến động ở mẫu ĐC1 và ĐC2. Nhờ sự bổ sung thêm chế phẩm sinh học chứa nhóm VK này nên số lượng nhóm VK này tăng lên đạt $54 \cdot 10^2 \div 72 \cdot 10^3$ CFU/g. Kết quả đánh giá nhóm VK phân giải lân trong các mẫu đất trồng cà phê cho thấy trước khi tiến hành thí nghiệm nhóm VK này tồn tại trong mẫu đất với số lượng khoảng 10^3

CFU/g. Sau thí nghiệm, số lượng nhóm VK này không có sự biến động ở cả mẫu ĐC1 và ĐC2. Nhờ sự bổ sung thêm chế phẩm sinh học chứa nhóm VK này nên số lượng nhóm VK này tăng đáng kể đạt $7,5 - 9,5.10^4$ CFU/g. Từ những kết quả thu được có thể thấy, việc kết hợp các chế phẩm sinh học đã mang lại hiệu quả góp phần cải tạo đất trồng cà phê đáp ứng được tiêu chí phát triển bền vững.

Bảng 3.6.33. Biến động nhóm vật sinh có hại trong đất trước và sau thí nghiệm

Công thức	<i>Fusarium</i> (CFU/gam đất)	<i>Colletotrichum</i> (CFU/gam đất)	<i>Pratylenchus</i> (cá thể/gam đất)	<i>Meloidogyne</i> (cá thể/gam đất)
Trước TN	170	120	132	94
CT1	35	25	40	23
CT2	35	27	56	15
CT3	45	44	43	28
CT4	34	32	48	23
CT5	27	25	32	27
CT6	25	16	36	21
ĐC1	150	110	100	80
ĐC2	92	140	96	110

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Kết quả ghi nhận cho thấy, ở các công thức thí nghiệm có số lượng các sinh vật gây hại đã giảm hẳn, gần đạt đến ngưỡng không gây hại (nếu $< 10^1$). Các lô đối chứng có giảm số lượng nhưng vẫn còn cao. Điều này đã giúp vườn cà phê không bị bệnh từ rễ. Nếu tiếp tục bón thực hiện tích hợp sử dụng các chế phẩm sinh học vào năm thứ 2 và thứ 3 tiếp theo hy vọng nguồn gây bệnh từ đất sẽ giảm hẳn, số lượng sinh vật gây bệnh từ đất sẽ dưới ngưỡng gây hại.

b. *Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng một số chất trong lá cà phê*

Bảng 3.6.34.. Biến động hàm lượng một số chất dinh dưỡng trong lá

Công thức	Hàm lượng đạm (%)	Hàm lượng lân (%)	Hàm lượng kali (%)
Trước thí nghiệm	3,10	0,14	1,8
CT1	3,12 ns	0,16 ns	1,8 ns
CT2	3,10	0,16	1,9
CT3	3,15	0,16	1,8
CT4	3,20	0,17	1,82
CT5	3,14	0,15	1,84
CT6	3,13	0,16	1,75
ĐC1	3,35	0,16	1,9
ĐC2	3,42	0,17	1,85

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước bón phân (tháng 5, 7 và 9/2018). CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm 30 ngày sau bón phân. ns: Sai khác không có ý nghĩa

Hàm lượng đạm và kali là 2 yếu tố quan trọng nhất chi phối năng suất cây cà phê. Thí nghiệm này tiến hành đánh giá hàm lượng đạm, kali và hàm lượng lân trong lá cây ở các công thức khác nhau - Hàm lượng đạm: hàm lượng đạm trong lá cà phê của các công thức thí nghiệm có sự khác nhau. Tuy nhiên, sự sai khác này không ý nghĩa thống kê giữa các cặp công thức còn lại. Kết quả phân tích về hàm lượng đạm trong lá cà phê nhận thấy ở các công thức giảm lượng đạm 25% - 35% vẫn cho tỷ lệ đạm trong lá đạt tối ưu. Trong khi ở công thức ĐC có hiện tượng thừa đạm nhẹ.

- Hàm lượng lân: hàm lượng lân trong lá ở các công thức có sai khác, tuy nhiên sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê. Trong nghiên cứu này, hàm lượng lân cũng nằm trong khoảng 0,15 - 0,17. Điều này cho thấy, các công thức thí nghiệm sử dụng lượng phân lân giảm 25% - 35% chưa ảnh hưởng đến hàm lượng lân trong lá, đến năng suất lá.

- Hàm lượng kali: hàm lượng lân trong lá ở các công thức có sai khác, tuy nhiên sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này cho thấy các công thức thí nghiệm sử dụng lượng phân kali giảm 25% - 35% chưa ảnh hưởng đến hàm lượng kali trong lá, đến năng suất lá.

c. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng các sắc tố quang hợp, sinh trưởng phát triển cây cà phê

Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng sắc tố quang hợp trong lá

Diệp lục a: Trong các phân tử diệp lục thì diệp lục a là chỉ tiêu quan trọng nhất và có liên quan chặt chẽ tới năng suất cây trồng nói chung và năng suất cà phê nói riêng. Số liệu phân tích về hàm lượng diệp lục a trong lá cà phê các công thức thí nghiệm cho thấy: hàm lượng diệp lục a ở các công thức thí nghiệm có sai khác không có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy giảm lượng phân bón không ảnh hưởng tới hàm lượng diệp lục a.

Bảng 3.6.35. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng diệp lục trong lá cà phê cuối giai đoạn kinh doanh

Công thức	Diệp lục a (mg/g lá tươi)	Diệp lục b (mg/g lá tươi)	Carotenoid (mg/g lá tươi)
Trước thí nghiệm	1,82	0,87	0,88
CT1	2,08	0,95 ns	0,94 ns
CT2	2,12	0,94	0,91
CT3	2,00	0,90	0,92
CT4	2,02	0,95	1,03
CT5	1,95	0,91	1,00
CT6	1,98	0,98	1,02
ĐC1	1,82	0,95	0,90
ĐC2	1,80	0,93	1,00

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước bón phân (tháng 5, 7 và 9/2018). CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm 30 ngày sau bón phân.

Diệp lục b: Hàm lượng diệp lục b và diệp lục tổng số trong lá cà phê được đánh giá không cao như diệp lục a nhưng cũng là những nhân tố quan trọng có liên quan tới năng suất cà phê. Hàm lượng diệp lục b ở các công thức khác nhau dao động từ 0,98 mg/g lá tươi (đối chứng) đến 1,08mg/g lá tươi ở công thức bón phân (CT5). Sự sai khác về hàm lượng diệp lục b trong lá cà phê với giai đoạn sau kinh doanh công thức thí nghiệm không có ý nghĩa thống kê.

Carotenoid: ở các công thức thí nghiệm mặc dù giảm 25% -35% phân N và P không ảnh hưởng tới hàm lượng carotenoid. Sự sai khác ở các công thức thí nghiệm không có ý nghĩa thống kê.

Khi bón phân vô cơ giảm 25% -35% cho cây cà phê với giai đoạn kiến thiết, sự sai khác về các chỉ tiêu diệp lục không có ý nghĩa thống kê. Như vậy, ở các công thức giảm lượng phân bón hóa học không ảnh hưởng đến các sắc tố quang hợp.

Ảnh hưởng của công thức tích hợp đến sinh trưởng, phát triển cây cà phê

Sau một năm thử nghiệm các công thức tích hợp, một số chỉ tiêu sinh trưởng phát triển của cây cà phê thể hiện bảng 3.6.36.

Bảng 3.6.36. Chỉ tiêu sinh trưởng cây cà phê cuối giai đoạn kinh doanh trong các công thức tích hợp

Công thức	Số cành mới hữu dụng	Trung bình số cặp lá mới mọc/cành (tháng 3 - 8/2018)	Sự tăng trưởng chiều dài cành (cm) (tháng 3 - 8/2018)
CT1	14,40 b	9,91 ab	47,8a
CT2	13,90 bc	9,76 ab	48,1a
CT3	14,60 b	9,90 ab	48,9a
CT4	14,90 b	9,28 ab	50,1a
CT5	14,70 b	10,24 a	51,3a
CT6	15,10 b	10,54 a	51,1a
ĐC1	12,51 a	8,79 c	45,3b
ĐC2	12,00 a	8,03 c	41,2c

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; ns: Sai khác không có ý nghĩa

Trong các công thức thí nghiệm thì công thức thí nghiệm 6 có số cành hữu hiệu mới hình thành nhiều nhất, tiếp theo là công thức 4 và 5, thấp nhất là công thức ND. Các công thức còn lại không có sự khác biệt rõ rệt với công thức 6, 4 và 5. Với 2 công thức thí nghiệm là công thức 6 (giảm 35% phân bón hóa học, thay thế 35% phân nhả chậm và sử dụng tích

hợp các chế phẩm sinh học) và công thức 5 (giảm 30% phân bón hóa học, thay thế 30% phân nhả chậm và sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học) có số cành hữu dụng mới hình thành khác biệt so với đối chứng và cao hơn các công thức còn lại. Với việc giảm lượng phân bón hóa học thích hợp, thay thế phân nhả chậm sẽ tạo tỉ lệ dinh dưỡng cân đối và thích hợp hơn cho cây phát triển.

Trung bình số cặp lá mới mọc/cành của cây cà phê thời kỳ kinh doanh có sự thay đổi khác nhau giữa các công thức thí nghiệm. Ở công thức 4, 5 và 6, trung bình số cặp lá mới mọc/cành hình thành mới cao hơn hẳn các công thức thí nghiệm ĐC, ND nhưng không có sự khác biệt so với các công thức còn lại. Chứng tỏ công thức sử dụng công thức phân bón giảm đi 25% - 35% lượng phân bón hóa học, thay thế phân nhả chậm và bổ sung phân bón hữu cơ vi sinh POLYFA TN3, CAFE-HTD-01 có tác dụng thúc đẩy kích thích hình thành cặp lá mới trên cà phê thời kỳ kinh doanh.

Sự tăng trưởng chiều dài cành có sự thay đổi khác nhau giữa các công thức thí nghiệm, trong đó sự tăng trưởng chiều dài cành ở các công thức thí nghiệm luôn cao hơn công thức đối chứng. Ở công thức 4, 5 và 6, sự tăng trưởng chiều dài cành cao hơn hẳn các công thức thí nghiệm ĐC, ND nhưng không có sự khác biệt so với các công thức còn lại. Chứng tỏ công thức sử dụng công thức phân bón giảm đi 25% - 35% lượng phân bón hóa học, thay thế phân nhả chậm và bổ sung phân bón hữu cơ vi sinh POLYFA TN3, CAFE-HTD-01 có tác dụng thúc đẩy kích thích sự tăng trưởng về chiều dài cành trên cà phê thời kỳ cuối kinh doanh.

d. Yếu tố cấu thành năng suất và năng suất cà phê

Các chỉ tiêu như tỷ lệ cành mang quả, tỷ lệ chùm quả trên cành, số quả trên chùm là những yếu tố cấu thành năng suất quả. Vì vậy, để xác định năng suất cây cà phê sau kinh doanh các công thức thí nghiệm, các chỉ tiêu cấu thành năng suất đã được xác định. Kết quả thể hiện ở bảng 3.6.37 như sau:

Kết quả bảng 3.6.37. cho thấy công thức 4, 5, 6 có số cành mang quả nhiều nhất, cao hơn so với cách chăm sóc của nông dân và các công thức thí nghiệm còn lại. Tuy nhiên, số chùm quả/cành cao nhất ở công thức 1, 4 và 5. Số quả trên cành cao nhất ở công thức 4, tiếp theo là công thức 2, cách chăm bón áp dụng qui trình bón phân của bộ nông nghiệp và phát triển nông thôn, công thức 6, 1, ND.

Tỷ lệ rụng quả là yếu tố quan trọng quyết định năng suất cây cà phê. Quả cà phê cũng như nhiều cây ăn quả khác có tỷ lệ rụng khá cao. Tỷ lệ rụng sẽ tác động mạnh tới năng suất. Một nghiên cứu khá đầy đủ về tỷ lệ rụng quả cà phê với cho thấy, các vườn bình thường có tỷ lệ rụng quả 35-40% số quả ban đầu. Thời gian mang quả cà phê khá dài (trên 10 tháng) càng có nhiều giai đoạn cho quả rụng. Lô thí nghiệm có tỷ lệ quả rụng thấp hơn đáng kể lô đối chứng 1 và 2.

Bảng 3.6.37. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến chỉ tiêu cấu thành năng suất và năng suất cà phê cuối giai đoạn kinh doanh

Công thức	Số cành mang quả	Số chùm quả/cành	Số quả/chùm	Tỷ lệ rụng quả (%)	NSTT (tấn/ha)	NS nhân (tấn/ha)
1	39,30ab	7,90bc	20,24bc	24,6 c	17,93c	4,19ab
2	36,22abc	7,83 bc	21,25ab	25,1c	17,72bc	4,26ab
3	29,75bcd	7,10c	15,50d	25,2c	17,81c	4,23a
4	22,40d	8,63ab	17,31cd	23,5c	17,54bc	4,30a
5	36,70abc	9,43a	22,08ab	24,0c	17,84c	4,35a
6	45,50a	8,68ab	24,88a	23,5c	17,82c	4,40a
ĐC	42,65a	7,86bc	16,79cd	28,9ab	14,84ab	3,42b
ND	27,5bc	12,54a	189,63c	29,9a	15,76b	3,48ab

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; ns: Sai khác không có ý nghĩa

Kết quả thí nghiệm cho thấy, công thức 6 và đối chứng có số cành mang quả cao nhất và có sự khác biệt so với các công thức 4, 3 và của nông dân. Số chùm quả/cành ở công thức 5 có sự vượt trội và cao hơn các công thức khác, nhưng không có sự khác biệt thống kê với công thức 4 và công thức 6. Số quả/chùm ở công thức 6 cao nhất, nhưng không có sự khác biệt so với công thức 5 và công thức 2. Năng suất thực thu ở công thức 1 và công thức 6 cao nhất và cao hơn so với đối chứng và cách chăm sóc của nông dân. Công thức 6 và 1 có sự vượt trội hơn so với các công thức khác về chỉ tiêu cấu thành năng suất. Tuy ở công thức đối chứng và công thức của người dân có sự vượt trội hơn so với các công thức thí nghiệm khác về một số chỉ tiêu cấu thành năng suất nhưng năng suất thấp hơn hẳn công thức 6 và công thức 1. Điều này có thể giải thích do công thức ĐC và ND bón nhiều đạm và không cân bằng giữa 3 nguyên tố N – P – K dẫn đến việc rụng quả cao hơn, vì thế mà số quả/cành, số chùm quả ít hơn so với các công thức nêu trên. Đồng thời do việc bón nhiều N nên sẽ ức chế quá trình hấp thu các nguyên tố khác, đặc biệt là P nên khả năng tạo độ chắc của hạt thấp, chính vì vậy mà năng suất thu hoạch thấp hơn các công thức thí nghiệm. Ở các công thức thí nghiệm có tỉ lệ giảm bón phân hóa học và sử dụng thay thế 1

phần lượng phân nhả chậm cùng sự hỗ trợ của các chế phẩm sinh học giúp cho cây cà phê hấp thu N-P-K tốt hơn, đặc biệt là hấp thu P và K tốt, vì thế mà tạo độ chắc cho hạt nên năng suất cao hơn..

e. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến tỷ lệ hạt cà phê nhân xuất khẩu

Chất lượng cà phê nhân phụ thuộc vào rất nhiều chỉ tiêu như: Hàm lượng cafein, dư lượng thuốc BVTV, màu sắc, mùi vị... nhưng theo Tiêu chuẩn Quốc gia về chất lượng cà phê nhân xuất khẩu (TCVN 4193:2005) đối với cà phê vối thì kích cỡ nhân hạt cà phê trên sàng là một trong những chỉ tiêu rất quan trọng không những quyết định phần lớn đến chất lượng cà phê mà còn ảnh hưởng đến giá bán góp phần nâng cao giá trị cà phê xuất khẩu của Việt Nam. Vì vậy, trong nghiên cứu này chỉ đề cập đến chỉ tiêu kích cỡ hạt cà phê nhân trên sàng, đặc biệt là trên sàng 18 (hạng đặc biệt) và trên sàng 16 (hạng 1).

Bảng 3.6.38. Ảnh hưởng của quy trình tích hợp đến tỷ lệ hạt cà phê nhân xuất khẩu

Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ % hạt cà phê nhân trên sàng		
	S18 (hạng đặc biệt) (>7,1mm)	S16 (hạng 1) (>6,3mm)	Tổng cộng
CT1	6,19	31,73	37,92
CT2	6,52	31,67	38,19
CT3	6,39	32,14	38,53
CT4	6,41	31,98	38,39
CT5	6,62	32,22	38,84
CT6	6,71	33,16	39,87
ĐC1	4,32	29,93	34,25
ĐC2	4,41	24,88	29,29

Ghi chú: Phân hạng chất lượng cà phê nhân áp dụng theo TCVN 4193:2005.

Theo tiêu chuẩn Quốc gia về chất lượng cà phê nhân xuất khẩu đối với cà phê vối thì cà phê hạng đặc biệt (với cỡ sàng S18/S16 có tỉ lệ khối lượng tối thiểu cà phê nhân trên sàng % đạt 90/10, có số lỗi tối đa là 30 trong 300g mẫu) và hạng 1 (với cỡ sàng S16/S13 có tỉ lệ khối lượng tối thiểu cà phê nhân trên sàng % đạt 90/10, có số lỗi tối đa là 90 trong 300g mẫu) mới đủ tiêu chuẩn xuất khẩu. Vì vậy, chỉ theo dõi ảnh hưởng của công thức tích hợp đến tỉ lệ % hạt cà phê trên sàng 16 (gồm cả tỉ lệ % hạt cà phê trên sàng 18 đạt hạng đặc biệt và hạng 1 để xuất khẩu - phụ biểu 3). Kích cỡ hạt cà phê nhân lớn hay nhỏ là đặc điểm di truyền của từng giống cà phê, các biện pháp canh tác như bón phân, tưới nước, thuốc BVTV... chỉ ảnh hưởng một phần đến kích cỡ hạt cà phê nhân chứ không ảnh hưởng nhiều như biện pháp giống mới. Khi theo dõi tỉ lệ % hạt cà phê trên sàng đủ tiêu chuẩn xuất khẩu trong các công thức tích hợp so với lượng phân bón theo quy trình của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn cho thấy: Các công thức tích hợp so với công thức của Bộ Nông nghiệp

và phát triển nông thôn cho cây cà phê với giai đoạn sau kinh doanh trên đất bazan đã làm tăng tỉ lệ % hạt cà phê nhân trên sàng >7,1 mm (hạng đặc biệt) và trên sàng >6,3 mm (hạng 1) dao động từ 35,48% (CT3) đến 37,64% (CT6).

Như vậy, sau năm thí nghiệm bón phân cho cà phê với giai đoạn sau kinh doanh trên đất bazan quy trình tích hợp các chế phẩm sinh hóa học đồng thời giảm phân NPK so với quy trình của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã cải thiện được tỉ lệ hạt cà phê nhân xuất khẩu, đặc biệt có công thức 6 khi giảm 35% lượng N, P đã cải thiện được tỉ lệ hạt cà phê trên sàng 16.

f. Diễn biến sâu bệnh hại

Trong năm thí nghiệm, tại ở các địa điểm thực hiện thí nghiệm và đối chứng chủ yếu xuất hiện 3 loại bệnh phổ biến trên cà phê đó là rệp sáp, gỉ sắt và thán thư với tỉ lệ cây bị hại cao lần lượt là 28,9%, 11,84% và 8,92%. Tỉ lệ một đực cành chiếm 1,82% số lượng cây trong vườn bị một gây hại. Nhưng ngược lại, trên vườn cà phê cuối giai đoạn kinh doanh không bị sâu đục thân gây hại. Trong quá trình thực hiện thí nghiệm, tình hình xử lý thuốc BVTV hóa học ở các ô thí nghiệm và đối chứng như sau: ở ô thí nghiệm phun 1 lần thuốc BVTV hóa học để trừ bệnh gỉ sắt, trong khi đó ở ô đối chứng đã phun 5 lần thuốc BVTV thực vật hóa học để phòng trừ bệnh gỉ sắt, thán thư, tuyến trùng. Như vậy, mô hình thí nghiệm đã giảm 100% thuốc trừ sâu hóa học trong phòng trừ rệp sáp và 80% thuốc BVTV hóa học so với đối chứng.

Việc theo dõi các chỉ tiêu thí nghiệm được thực hiện hàng tháng. Kết quả ghi nhận các loại bệnh khác nhau vào các thời điểm khác nhau trong năm và được ghi chép vào thời điểm bắt đầu xuất hiện bệnh đến thời điểm sau áp dụng các biện pháp xử lý.

Diễn biến rệp sáp hại cà phê

Bảng 3.6.39. Ảnh hưởng của công thức tích hợp tới diễn biến rệp sáp trên cây cà phê cuối giai đoạn kinh doanh

Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ cây bị rệp sáp (%)	Số con/cây
Trước TN	28,9	98,5
CT1	6	13,2
CT2	6	10,5
CT3	7	12,5
CT4	4	9,8
CT5	6	7,4
CT6	6	8,1
ĐC1	7	13,0
ĐC2	10	15,0

Trước TN: đánh giá tại các thời điểm 7 ngày trước khi bắt đầu thí nghiệm. CT1-6: đánh giá tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Từ kết quả bảng 3.6.39 cho thấy tỉ lệ cây cà phê bị rệp sáp có chiều hướng giảm mạnh tại thời điểm sau thí nghiệm so với thời điểm trước thí nghiệm ở các công thức thí nghiệm và công thức đối chứng. Đặc biệt, ở các công thức thí nghiệm chỉ sử dụng thuốc thảo mộc ANISAF SH01 không sử dụng thêm thuốc BVTV hóa học nào để phòng trừ rệp sáp, mức độ gây hại ở cả tỷ lệ cây bị bệnh và số lượng con/cây đều giảm mạnh. Điều này chứng tỏ, việc sử dụng chế phẩm ANISAF SH01 có tác dụng diệt trừ và phòng ngừa hiệu quả rệp sáp hại cà phê.

Diễn biến bệnh hại cà phê

Tỉ lệ cây bị bệnh thán thư giảm mạnh ở các công thức thí nghiệm và đều giảm nhẹ ở công thức bón phân của người dân và công thức ĐC1. Kết quả này cũng chứng minh được vai trò của việc sử dụng kết hợp bón phân cân đối, hợp lý, đồng thời kết hợp bổ sung tích hợp các chế phẩm sinh học có chứa VSV có lợi và VSV đối kháng nên đã làm giảm mật độ bào tử nấm gây bệnh thán thư, do đó sẽ làm ức chế và giảm mức độ phát triển lây lan của bệnh thán thư gây hại mặc dù không phun thuốc BVTV hóa học phòng trừ nấm như ở hai công thức đối chứng.

Tỉ lệ cây bị bệnh gỉ sắt không cao và không có sự biến động lớn vào thời điểm trước thí nghiệm và vào thời điểm thu hoạch. Các công thức thí nghiệm và công thức đối chứng đều có tỉ lệ cây bị bệnh gỉ sắt sau thí nghiệm thấp hơn trước thí nghiệm. Tuy nhiên, ở công thức đối chứng 2 có tỉ lệ cây bị bệnh gỉ sắt giảm chậm hơn so với các công thức còn lại. Kết quả thí nghiệm cho thấy được vai trò của việc bón phân, tỉ lệ dinh dưỡng cho cà phê. Ở các công thức thí nghiệm, kể cả công thức của nông dân vào thời điểm thu hoạch đều có tỉ lệ bệnh gỉ sắt giảm hơn so với trước thí nghiệm. Điều này có thể giải thích, thứ nhất là do các công thức này bón cân đối NPK. Đối với công thức đối chứng, lượng phân bón chỉ tập trung vào phân đạm ure và kali chlorua. Đạm ure giúp cây phát triển mạnh về tán lá, hình thành mô non nên làm giảm sức đề kháng, là môi trường thích hợp để các loài nấm bệnh gây hại. Thứ hai, việc bổ sung các chế phẩm sinh học ở các công thức thí nghiệm giúp bổ sung lượng lớn mật độ các VSV đối kháng nấm *Hemileia* gây bệnh gỉ sắt trong đất, tỉ lệ bệnh gỉ sắt trên cây giảm mạnh ở các công thức thí nghiệm mặc dù không phun thuốc diệt

trừ năm.

Bảng 3.6.40. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp tới diễn biến bệnh hại cà phê cuối giai đoạn kinh doanh

Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ cây bị bệnh thán thư (%)	Tỷ lệ cây bị bệnh gỉ sắt (%)
Trước TN	11,84%	8,92%
CT1	2	2
CT2	3	1
CT3	3	1
CT4	2	2
CT5	2	1
CT6	1	1
ĐC1	7	5
ĐC2	9	3

Trước TN: đánh giá tại các thời điểm 7 ngày trước khi bắt đầu thí nghiệm. CT1-6: đánh giá tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

h. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hiệu quả kinh tế

Bảng 3.6.41. Sơ bộ thu nhập từ các ô thực hiện công thức thí nghiệm

Công thức	Năng suất (tấn/ha)	Thu nhập (1.000đ)	Thu nhập tăng chênh so với ĐC1	Thu nhập tăng chênh so với ĐC2
CT1	4,19	142.460	26.180	24.140
CT2	4,26	144.840	28.560	26.520
CT3	4,23	143.820	27.540	25.500
CT4	4,3	146.200	29.920	27.880
CT5	4,35	147.900	31.620	29.580
CT6	4,4	149.600	33.320	31.280
ĐC1	3,42	116.280		
ĐC2	3,48	118.320		

Ghi chú: giá bán cà phê 34 triệu đồng/tấn

Các công thức sử dụng tích hợp các chế phẩm sẽ phát sinh thêm chi phí tăng từ 4.200.000đ - 8.200.000đ. Trong khi đó, thu nhập tăng lên do tăng năng suất so với ĐC1 dao động 26.180.000đ - 33.200.000đ, so với ĐC2 tăng dao động từ 24.140.000đ - 31.280.000đ.

Lợi nhuận lâu dài là khi sử dụng tích hợp các chế phẩm là cải thiện lý hóa đất đai theo hướng có lợi cho cây cà phê, hệ VSV có ích trong đất tăng, mật độ các chủng VSV bị ức chế giảm, bộ rễ cà phê phục hồi và tăng kích thích sinh trưởng số lượng rễ, qua đó giúp cây tăng khả năng kháng bệnh, tăng sinh trưởng cho những năm tiếp theo. Vì vậy, môi trường canh tác, năng suất và chất lượng cà phê được cải thiện theo hướng bền vững.

Bảng 3.6.42. Chi phí tăng thêm khi sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho cà phê cuối giai đoạn kinh doanh

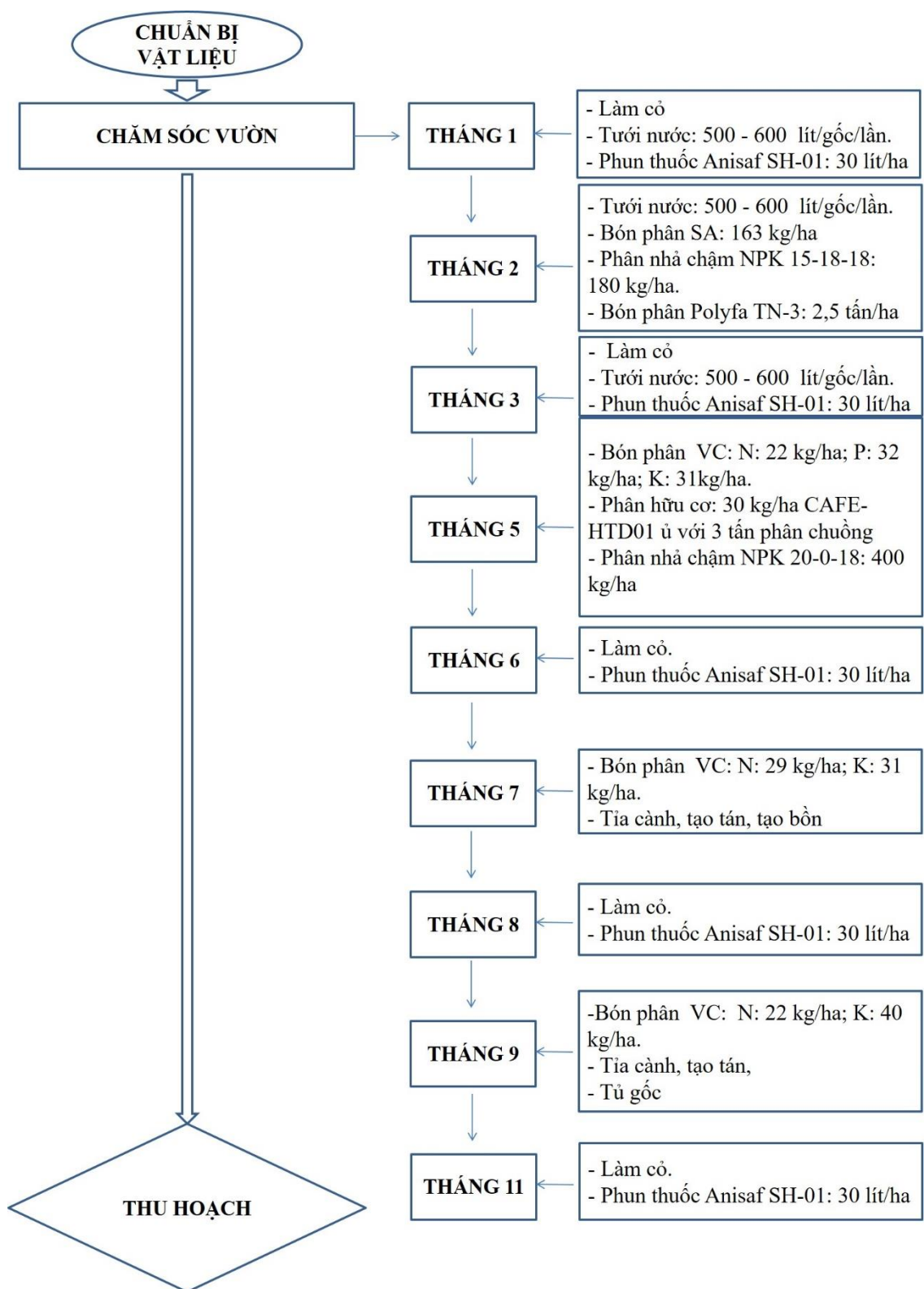
DVT: 1.000 đ, cho 01 ha

Công thức	Chi thêm bón chế phẩm	Chi thêm công bón chế phẩm và thu hái	Chi giảm do giảm thuốc BVTV	Chi giảm do giảm phân hóa học	Chi giảm công phun thuốc BVTV	Chi phí tăng thêm so với ĐC*
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>8</i>
CT1	29.800	2.500	16.500	7.500	1000	8.200
CT2	29.800	2.500	16.500	9.000	1000	5.700
CT3	29.800	2.500	16.500	10.500	1000	4.200
CT4	29.800	2.500	16.500	7.500	1.000	8.200
CT5	29.800	2.500	16.500	9.000	1.000	5.700
CT6	29.800	2.500	16.500	10.500	1.000	4.200

*Ghi chú: giá phân bón POLYFA TN3: 4 triệu đồng/tấn; Anisaf SH01: 120.000 đồng/lít; CAFE HTD-01: 60.000đ/kg; công lao động 200.000 đ/công; giá bán cà phê 34 triệu đồng/tấn. Cột * tính bằng = cột 2 + cột 3 + cột 4 – cột 5 – cột 6*

3.7.5. Đề xuất quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học trên cây cà phê giai đoạn cuối kinh doanh

Căn cứ kết quả đã trình bày ở trên, đề xuất quy trình tích hợp các chế phẩm sinh hóa học bao gồm chế phẩm CAFE HTD-01, POLYFA TN3, phân bón nhả chậm NPK và thuốc trừ sâu sinh học ANISAF SH01 cho cây cà phê cuối giai đoạn kinh doanh.



Hình 3.6.3. Sơ đồ quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho cây cà phê cuối giai đoạn kinh doanh

Mô tả quy trình

- **Chuẩn bị nguyên vật liệu:**

a/ Chế phẩm CAFE HTD-01:

- Phân hữu cơ đã hoai mục: 10 tấn
- NPK: 50kg
- Chế phẩm CAFE HTD-01: 30 kg
- Chế phẩm Trichoderma tinh: 2 kg

Cách ủ:

Hòa chế phẩm CAFE HTD-01 vào 150 lít nước, để thời gian 3-5 tiếng đồng hồ cho tan đều.

Tiến hành ủ: Hỗn hợp phân hữu cơ (hoặc phân chuồng) + NPK + dung dịch chế phẩm CAFE HTD-01 được trộn đều. Tưới thêm nước bảo đảm đủ ẩm từ 50 - 60% (lấy một nắm bóp chặt thấy rỉ nước ra kẽ tay là được). Đánh đồng, phủ bạt để giữ ẩm. Tuyệt đối không được nén chặt đồng ủ (không dẫm đạp lên đồng ủ).

Sau khi ủ 10 ngày thu được phân bón hữu cơ vi sinh có thể mang đi bón cho cây.

Chú ý:

- Không sử dụng nước máy để ủ.
- Phân vi sinh không trộn chung với phân chuồng chưa hoai mục.
- Không được phơi phân vi sinh dưới ánh nắng mặt trời (Khi trộn phải tiến hành nơi râm mát).

b/ Thuốc trừ sâu sinh học ANISAF SH01 :

Nồng độ tưới: 0,7%

Cách pha:

Lấy 700 ml thuốc ANISAF SH01 pha với 99,3 lít nước để được 100 lít thuốc đã pha.

Để pha 30 lít thuốc ANISAF SH01 cần pha với 4255 lít nước để được 4275 lít thuốc.

- **Chăm sóc vườn cây:**

Tháng 1:

Bước 1: Làm cỏ: Đối với cà phê kiến thiết cần làm sạch cỏ từ 3 - 4 lần/năm ở trên hàng cà phê; diện tích làm cỏ rộng ra ngoài tán cây cà phê mỗi bên 0,5 m. Đối với đất dốc, chỉ làm cỏ theo băng trên hàng cà phê, không làm cỏ toàn bộ diện tích.

Bước 2: Tưới nước:

- Chu kỳ tưới 20 - 25 ngày. Thời điểm tưới lần đầu được xác định khi mầm hoa đã phát triển đầy đủ ở các đốt ngoài cùng của cành, thông thường sau khi kết thúc mùa mưa 2 - 2,5 tháng (Tầm tháng 1 hàng năm). Trong vụ tưới cần theo dõi lượng mưa để điều chỉnh lượng nước hay chu kỳ tưới (lượng mưa 35 - 40 mm có thể thay thế cho 1 lần tưới).

- Cách thức, liều lượng tưới: Tưới gốc: 500 - 600 lít/gốc/lần.

Bước 3: Phun thuốc ANISAF SH01 :

- Liều lượng: khoảng 3,8 lít/gốc, nồng độ: 0,7%

- Cách thức: Tưới phun vào cả cành, lá và gốc cây cà phê.

- Chú ý: Làm sạch lá, cỏ quanh phần gốc sẽ tưới thuốc để đảm bảo thuốc được ngấm trực tiếp xuống đất nơi có rễ cây, giúp cây có thể hút được thuốc; Tưới vào lúc râm mát. Không tưới thuốc vào lúc trời mưa hay quá nắng để đảm bảo cây hút thuốc được tốt nhất và tránh thuốc bị rửa trôi. Nếu gần thời gian tưới thuốc có kế hoạch bón phân thì nên tưới thuốc trước khi bón phân khoảng 5 ngày.

Bước 4: Bón phân POLYFA TN3:

- Liều lượng: 2,5 tấn/ha

- Cách bón: Phân được bón theo rãnh, được đào dọc theo một bên thành bồn 20 cm, sâu 25 - 30 cm, bón khoảng 2,2 kg phân/gốc cà phê, sau đó lấp đất lại.

Tháng 2:

Bước 1: Tưới nước:

- Cách thức, liều lượng tưới: tương tự tháng 1.

Bước 2: Bón phân SA:

- Liều lượng: 130 kg/ha

- Cách bón: Phân bón theo rãnh của hình chiếu tán cây, sau đó lấp đất lại.

Tháng 3:

Bước 1: Làm cỏ: cách thức làm cỏ tương tự tháng 1.

Bước 2: Tưới nước: cách thức, liều lượng tưới tương tự tháng 1.

Bước 3: Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

Tháng 5:

Bón phân:

Phân vô cơ: Bón phân khi đất đủ ẩm. Phân được bón vào rãnh hoặc vào hốc cách gốc 30 - 40 cm và lấp đất lại, không nên trộn phân lân với phân đạm. Phân vô cơ bón với liều lượng: Urê: 40 kg/ha, Lân nung chảy: 146 kg/ha, Kaliclorua: 68 kg/ha; Phân nhả chậm NPK: 150 kg/ha;

Phân hữu cơ ủ với chế phẩm CAFE HTD-01 và chế phẩm Trichoderma: Phân được bón theo rãnh, được đào dọc theo một bên thành bồn 20 cm, sâu 25 - 30 cm, bón khoảng 9 kg phân/gốc cà phê, sau đó thì lấp đất lại.

Tháng 6:

Bước 1: Làm cỏ: cách thức làm cỏ tương tự tháng 1.

Bước 2: Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

Tháng 7:

Bước 1: Tỉa cành, tạo tán:

- Đánh chồi thường xuyên 1 tháng/lần vào mùa mưa và 2 tháng/lần vào mùa khô: tiến hành tỉa thưa bớt các cành thứ cấp mọc ở các vị trí không thuận lợi (nằm sâu trong tán, mọc vượt, mọc chen chúc nhiều cành thứ cấp trên cùng một đốt) để cây được thông thoáng.

Bước 2: Tạo bồn: Bồn được mở rộng theo tán cây với độ sâu 15 - 20 cm.

Bước 3: Bón phân:

Phân vô cơ: liều lượng: Urê: 120 kg/ha, Kaliclorua: 105 kg/ha. Cách thức tương tự tháng 5.

Tháng 8:

Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

Tháng 9:

Bước 1: Tỉa cành, tạo tán: Tương tự tháng 7.

Bước 2: Tủ gốc bằng vật liệu hữu cơ như rơm rạ, cây phân xanh, tàn dư thực vật... Vật liệu tủ phải cách gốc 10 - 15 cm.

Bước 3: Bón phân:

Phân vô cơ: liều lượng: Urê: 60 kg/ha, Kaliclorua: 140 kg/ha. Cách tưới tương tự tháng 5.

Tháng 11:

Bước 1: Làm cỏ: cách thức làm cỏ tương tự tháng 1.

Bước 2: Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

2.3.3. Thu hoạch:

Thời điểm thu hoạch: Căn cứ vào tỷ lệ quả chín trên vườn, thường hái 3 đợt/ 1 vụ:

- Hái đợt 1: khi vườn có 20 - 25% quả chín.
- Hái đợt 2 khi chín rộ (trên 50% quả chín).
- Hái đợt 3 sau đợt 2 khoảng 20 ngày.

Kỹ thuật thu hái: Có 3 cách:

(1) Hái chọn: Dùng tay lựa các quả chín để hái.

(2) Hái tuốt: Dùng tay tuốt tất cả các chùm quả từ gốc cành ra phía ngọn cành.

(3) Hái tuốt chọn: Dùng tay vặt những chùm có nhiều quả chín, chừa lại quả xanh trong chùm và trên cành.

Chú ý: Quả để chế biến ướt cần hái chọn hoặc tuốt chọn. Quả để chế biến khô có thể hái tuốt; tuy vậy nên tuốt chọn để tỷ lệ quả chín càng nhiều càng tốt.

Loại bỏ tạp chất và đóng bao

- Loại bỏ các tạp chất lá cây, cành khô trong đóng quả, sau đó dồn quả đầy bao rồi buộc/khâu kín miệng bao.

- Quét lượm quả rơi vãi ngoài đất, loại bỏ tạp chất và đem phơi riêng.

Vận chuyển và lưu giữ quả tươi:

- Vận chuyển quả về nơi chế biến ngay trong ngày.

- Không lưu giữ quả quá 12 giờ với cà phê chè hoặc quá 24 giờ với cà phê vối khi chế biến ướt; không quá 24 giờ khi chế biến khô, đặc biệt trong điều kiện nhiệt độ cao.

- Trường hợp chế biến không kịp, cần đổ quả trên nền khô ráo, sạch và thông thoáng, lớp quả không dày quá 30 cm và không lưu giữ quả quá 24 giờ.

Quy trình được sử dụng để xây dựng mô hình trình diễn ở nội dung tiếp theo.

3.7.6. Nghiên cứu xây dựng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học trên cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh

3.7.6.1. Đặc điểm vườn trước khi thực hiện thí nghiệm:

Cây hồ tiêu 4 năm tuổi đã cho thu hoạch ổn định, năng suất trung bình là 3,5 tấn/ha. Trụ cây tiêu là trụ sống, khoảng cách trồng là 2,5m x 2,5m. Mật độ trồng là 1600 cây/ha. Cây có biểu hiện vàng lá ở những lá già, rụng lá.

Đất trồng hồ tiêu chua nhẹ (pH = 5,46), chưa thích hợp để canh tác hồ tiêu hiệu quả. Hàm lượng các chất hòa tan trong đất trung bình (EC = 270 μ S). Hàm lượng mùn tổng số trong đất giàu, chủ yếu là mùn humic, tỉ lệ H/F > 1. Hàm lượng đạm tổng số và đạm dễ tiêu trong đất giàu, lân tổng số và lân dễ tiêu ở mức trung bình và kali trao đổi ở mức trung bình. Hàm lượng dinh dưỡng này phù hợp để hồ tiêu sinh trưởng và phát triển. Trước thời điểm thí nghiệm, mật độ các nấm trong đất trồng hồ tiêu khá phong phú. Các nhóm nấm gây hại hồ tiêu xuất hiện với mật độ cao như nấm *Fusarium* sp., nấm *Rhizoctonia* sp., nấm *Pythium* sp. *Phytophthora* sp. Trong đất cũng xuất hiện một số nấm có lợi với mật độ bào tử cao như nấm *Trichoderma* sp. và *Penicillium* sp. Bên cạnh đó, trong đất trồng hồ tiêu cũng tìm thấy nấm *Arthrobotrys* sp. có khả năng bẫy tuyến trùng. Mật độ tuyến trùng ký sinh tổng số trong đất trồng hồ tiêu khá cao, mật độ tính được là 158 cá thể/100cm³ đất, bao gồm tuyến trùng nốt sưng *Meloidogyne* spp. và *Tylenchus* sp., *Helicotylenchus* sp., *Radopholus* sp. và *Criconebella* sp.

Trên vườn hồ tiêu tỉ lệ cây bị bệnh đốm lá là 45%. Bệnh vàng lá trên hồ tiêu cũng xuất hiện với tỉ lệ cao, chiếm 23% cây bị bệnh. Bệnh chết nhanh cũng xuất hiện trên một số cây trên vườn với tỉ lệ là 1,3%. Tuy nhiên, cấp hại chỉ mới mức 1, tức là trên cây chỉ có một vài cành bị nấm *Phytophthora* sp. xâm nhập và gây hại. Vườn hồ tiêu kinh doanh xuất hiện rệp gây hại với tỉ lệ cây bị rệp gây hại 4,5%. Ngoài ra, trên vườn hồ tiêu không bị côn trùng khác gây hại.

3.7.6.2. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các công thức lên các chỉ số của vườn hồ tiêu kinh doanh

a. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu đất

Chỉ tiêu hóa tính đất

Ở các vùng trồng tiêu lớn trên thế giới, chế độ phân bón được khuyến cáo cho cây hồ tiêu có khác nhau, căn cứ vào tính chất đất cũng như khả năng cho năng suất hồ tiêu của từng vùng. Tuy nhiên, mọi khuyến cáo về bón phân cho hồ tiêu đều thống nhất cho rằng phân hữu cơ là loại phân không thể thiếu được trong canh tác hồ tiêu và nên tăng dần phân hữu cơ, giảm phân vô cơ, đặc biệt là phân đạm. Chính vì vậy, trong nghiên cứu này, tiến hành xây dựng các công thức tích hợp sử dụng các chế phẩm sinh học thay thế/giảm lượng phân vô cơ sử dụng trong quy trình.

Để đánh giá ảnh hưởng của các công thức tích hợp các chế phẩm sinh học gồm phân bón POLYFA TN3, HOTIEU HTD-03, ANISAF SH01 qua thời gian thử nghiệm là 1 năm đến một số chỉ tiêu hóa tính của đất trong vườn hồ tiêu kinh, tiến hành lấy mẫu đất trước thí nghiệm và 4 lần/năm sau khi bón phân 15 đến 20 ngày, phân tích và kết quả trung bình theo dõi được ghi nhận tại bảng 3.6.43:

Bảng 3.6.43. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến một số chỉ tiêu hóa tính của đất (tầng 0 – 30 cm)

Công thức	Các chỉ tiêu theo dõi				
	pH _{KCl}	Hữu cơ (%)	CEC (lđl/100g đất)	Ca ²⁺ (lđl/100g đất)	Mg ²⁺ (lđl/100g đất)
Trước TN	5,32	4,15	18,56	3,01	2,15
CT1	5,45	4,67ab	22,38 ^{ns}	3,09	2,18
CT2	5,48	4,58ab	22,70	3,17	2,21
CT3	5,45	4,57ab	21,80	3,15	2,17
CT4	5,42	4,61b	22,40	3,1	2,17
CT5	5,40	4,58b	21,00	3,03	2,18
CT6	5,41	4,54b	22,08	3,18	2,19
ĐC1	5,36	4,13a	20,00	3	2,13
ĐC2	5,33	4,14a	20,20	3,19	2,2

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm kết thúc thí nghiệm. Các chữ cái khác nhau trong hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; ns: Sai khác không có ý nghĩa

- Đối với hồ tiêu, pH đất có vai trò quyết định đến sự sinh trưởng và phát triển của hồ tiêu ở giai đoạn đầu, do đó sẽ quyết định đến năng suất hồ tiêu giai đoạn sau kinh doanh. Sau 1 năm thực hiện thí nghiệm, nhận thấy tất cả các công thức tích hợp đều có giá trị pH cao hơn so với ban đầu và có sự sai khác ở các công thức, tăng cao nhất ở công thức CT2 (5,48) và thấp nhất ở công thức đối chứng ND (5,53). Và ở ngưỡng pH thì cách bón phân cũng như tích hợp các chế phẩm sinh học và công thức đối chứng

đều thích hợp với sự phát triển của hồ tiêu. Các công thức giảm 25% - 50% phân bón, bổ sung thay thế bằng các chế phẩm sinh học có ảnh hưởng tích cực đến pH_{KCl} của đất.

- Hàm lượng hữu cơ: Trong nghiên cứu này, các công thức thí nghiệm áp dụng tích hợp các chế phẩm sinh học, ngoài bổ sung chế phẩm HOTIEU HTD-03 ử với phân chuồng đã cung cấp lượng lớn chất hữu cơ và các chủng VSV hữu ích. Các công thức tích hợp còn bổ sung 2,5 tấn chế phẩm hữu cơ vi sinh POLYFA TN3 với thành phần là 22% hữu cơ. Chính vì vậy, hàm lượng hữu cơ trong các công thức thí nghiệm tăng sau một năm áp dụng công thức tích hợp. Ngược lại, ở công thức đối chứng thì chỉ tiêu này giảm nhẹ. Kết quả này cho thấy, sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học, tăng cường bón phân hữu cơ, bổ sung VSV có lợi trong đất sẽ giúp quá trình chuyển hóa các chất hữu cơ trong đất thành mùn tốt hơn.

- Dung tích hấp phụ (CEC): Theo dõi số liệu trung bình về dung tích hấp phụ trong đất của 8 công thức đạt mức trung bình khá (20,00 lđl/100 g đất đến 23,50 lđl/100 g đất), có sự sai khác nhưng không có ý nghĩa thống kê giữa các công thức so với đối chứng và trước khi bón phân. Kết quả phân tích này cao hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Tiến Sĩ, (2009) trên đất trồng hồ tiêu tại Đắc Nông dao động từ 8,70 đến 14,40 lđl/100g đất (năm 1996) và 12,20 đến 17,20 lđl/100g đất (năm 2006).

- Hàm lượng Ca^{2+} và Mg^{2+} :

Canxi giúp cho cây hồ tiêu phát triển các đọt non, rễ non, phát triển hoa và giúp đậu quả. Canxi còn giúp vận chuyển tinh bột, đường từ thân lá vào quả làm quả chắc. Khi thiếu canxi cây cần cỗi, các lóng ngắn, lá non có màu xanh nhạt, chậm phát triển, mép lá bị cháy sém, lá sẽ rụng, các lá của đọt non và đọt bị xoắn lại, lá bị mất màu xanh, cây không phát triển được, rễ bị thoái hóa và thối rất nhanh đồng thời chồi gốc mọc yếu ớt, các dây bị nặng chỉ còn lá non. Phân tích hàm lượng Ca^{2+} trong đất của các công thức sau một năm thí nghiệm nhận thấy có sự khác nhau giữa các công thức so với đối chứng. Tuy nhiên sự khác nhau này không ý nghĩa thống kê giữa các công thức nghiên cứu.

Tương tự, magie là nguyên tố trung lượng rất cần thiết cho cây hồ tiêu, phân tích hàm lượng Mg^{2+} trong đất của các công thức sau một năm thí nghiệm nhận thấy có sự khác nhau giữa các công thức so với đối chứng. Tuy nhiên sự khác nhau này không ý nghĩa thống kê giữa nhóm công thức. Khi hàm lượng Mg^{2+} trao đổi trong đất tăng mà hàm lượng Ca^{2+} trao đổi không tăng thì cấu trúc của đất trở nên thô hơn và nếu tỉ lệ $Ca^{2+}/Mg^{2+} < 1$ thì cấu

trúc đất không ổn định, nằm trong mức báo động. Trong đất của các công thức bón phân trước và sau thí nghiệm cho thấy tỉ lệ này đạt thấp nhất từ 1,40 (ĐC1), cao nhất 1,45 (CT4). Như vậy, cấu trúc đất tại khu vực thí nghiệm vẫn giữ được sự ổn định.

Bảng 3.6.44. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến các chỉ tiêu dinh dưỡng đất

Công thức	Chất dinh dưỡng tổng số (%)			Chất dinh dưỡng dễ tiêu (mg/100g đất)		
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Trước TN	2,17	2,19	0,16	17,90	23,57	10,80
CT1	2,19	2,11	0,18	22,57	26,71	18,4
CT2	2,19	2,12	0,17	22,41	26,21	18,8
CT3	2,19	2,12	0,16	21,38	26,32	17,8
CT4	2,16	2,11	0,18	23,89	27,76	18,0
CT5	2,17	2,10	0,17	23,50	26,90	17,5
CT6	2,16	2,01	0,16	23,4	26,7	17,5
ĐC1	2,20	2,35	0,18	19,8	23,9	14,2
ĐC2	2,21	2,36	0,18	20,5	23,7	12,6

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Hàm lượng dinh dưỡng trong đất trồng hồ tiêu thời kỳ kinh doanh khá cao, hầu hết các chỉ tiêu dinh dưỡng đều ở mức dinh dưỡng giàu. Tuy hàm lượng dinh dưỡng tổng số trong đất khá cao nhưng hàm lượng dinh dưỡng hòa tan trong đất thấp. Sau một năm thực hiện các công thức tích hợp cho thấy:

- Hàm lượng nito: Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng N tổng số trong đất ở cả công thức tích hợp và đối chứng đều không có sự biến động nhiều. Hầu hết ở các công thức thí nghiệm thì hàm lượng N tổng số bằng hoặc giảm nhẹ so với ban đầu, tuy nhiên ở các công thức đối chứng hàm lượng N tổng số vẫn có xu hướng tăng. Do ở mô hình thí nghiệm đã giảm đi 25% - 35% phân bón hóa học, trong đó đã giảm đi đáng kể lượng phân đạm bón cho cây vì thế N tổng số trong đất giảm nhẹ. Tuy nhiên ở các công thức thí nghiệm áp dụng tích hợp các chế phẩm VSV đã bổ sung vào đất một hệ VSV có khả năng cố định đạm làm cho quá trình chuyển hóa đạm trong đất tăng lên nên N tổng số trong đất giảm nhưng hàm lượng nito dễ tiêu vẫn tăng nhẹ/không đổi so với trước thí nghiệm.

- Hàm lượng phospho tổng số trong đất trước thí nghiệm rất cao, đạt 2,32%, cao hơn rất nhiều so với các tài liệu công bố ở trong nước cũng như chỉ tiêu về dinh dưỡng trong đất trồng. Sau thí nghiệm, hàm lượng lân tổng số thấp hơn trước thí nghiệm. Ngược lại, hàm lượng phospho hòa tan trong đất trước thí nghiệm thấp hơn rất nhiều sau thí nghiệm.

Chứng tỏ, sau một chu trình bón phân hữu cơ, bổ sung các chế phẩm sinh học cho hồ tiêu, hàm lượng phospho được giải phóng trong đất nhiều hơn nên hàm lượng dinh dưỡng cao hơn trước thời điểm chưa áp dụng bón chế phẩm POLYFA TN3 và chế phẩm vi sinh HOTIEU HTD-03.

- Hàm lượng kali tổng số và dễ tiêu: Hàm lượng kali tổng số trong đất của các công thức bón các công thức có sự sai khác nhưng không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này phù hợp với thực tế lượng phân kali được bón theo đúng quy trình của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ở tất cả 6 công thức thí nghiệm nên sự khác biệt là không rõ. Hàm lượng kali dễ tiêu tăng mạnh ở các công thức thí nghiệm so với công thức đối chứng. Điều này cho thấy áp dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học, bổ sung VSV có lợi và phân hữu cơ đã ủ hoai mục nên tăng hàm lượng hữu cơ, hàm lượng mùn đặc biệt là hàm lượng acid humic trong đất, làm gia tăng khả năng trao đổi cation và anion trong đất trong đó có ion K^+ .

Những kết quả này cho thấy, giảm lượng phân vô cơ N,P, K không ảnh hưởng hàm lượng chất dinh dưỡng tổng số trong đất nhưng có tác động tích cực đến hàm lượng chất dinh dưỡng dễ tiêu, pH_{KCl} , EC theo hướng có lợi cho sinh trưởng của cây hồ tiêu.

Chỉ tiêu sinh học đất

Bảng 3.6.45. Biến động VSV có lợi trong đất trước và sau thí nghiệm

Công thức	Nhóm VK cố định đạm			Nhóm VSV phân giải lân (10^4 CFU /g)	Nhóm VSV đối kháng với chủng VSV gây bệnh		
	<i>Acetobacter</i> (10^3 CFU/g)	<i>Azotobacter</i> (10^3 CFU/g)	<i>Azospirillum</i> (10^2 CFU/g)		<i>Aspergillus</i> (10^2 CFU /g)	<i>Trichoderma</i> (10^3 CFU /g)	<i>Penicillium</i> (10^3 CFU /g)
Trước TN	5	2,1	0	7	45	8	2,5
CT1	90	47	31	8,5	96	78	45
CT2	100	44	24	102	85	89	36
CT3	110	56	26	87	104	215	46
CT4	105	37	27	97	100	206	63
CT5	98	43	43	74	89	187	54
CT6	108	55	25	88	96	130	62
ĐC1	13	7	0	7,6	45	54	14
ĐC2	12	9	0	6,8	24	34	8

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Việc sử dụng quá nhiều phân bón và thuốc BVTV hóa học làm ảnh hưởng lớn đến hệ sinh thái đất trồng hồ tiêu đặc biệt là khu hệ VSV. Mô hình sử dụng chế phẩm vi sinh

để phân hủy các chất phế thải từ quá trình vệ sinh đồng ruộng (cành, lá già, lá bị sâu bệnh, cỏ dại...) vừa cung cấp lại chất mùn cho cây hồ tiêu vừa có tác dụng diệt các mầm bệnh do khi ủ với chế phẩm vi sinh, nhiệt độ đồng ủ tăng cao (50-70°C). Đồng thời khi sử dụng chế phẩm VSV chức năng HOTIEU HTD-03, phân bón vi sinh cải tạo đất POLYFA TN3 đã bổ sung cho đất hệ VSV có ích như VSV cố định đạm, VSV phân giải lân và các VSV sinh chất kích thích sinh trưởng cũng như VSV đối kháng với bệnh hại hồ tiêu. Trong phần khảo sát này, kiểm tra sự biến động mật độ trước và sau thí nghiệm của 2 nhóm nấm *Penicillium* sp. và *Trichoderma* (nhóm nấm có khả năng đối kháng với các chủng VSV gây bệnh, được bổ sung vào đất qua chế phẩm HOTIEU HTD-03, POLYFA TN3); nhóm VSV cố định đạm VK tổng số thuộc các chi *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Azospirillum* (nhóm các VK có khả năng phân giải lân, cố định đạm...) đã bổ sung vào mô hình dưới dạng các chế phẩm sinh học (HOTIEU HTD-03, POLYFA TN3...).

Nhóm *Azotobacter* cố định đạm, tạo NAA giúp hệ rễ sinh trưởng tốt hơn trước. Trước khi thực hiện thí nghiệm thấy có sự tồn tại của nhóm VK này với số lượng $2,7.10^3$ CFU/g. Sau khi tiến hành thí nghiệm, số lượng nhóm VK này gần như không có sự biến động ở công thức ĐC1 và ĐC2. Nhờ sự bổ sung thêm chế phẩm sinh học chứa nhóm VK này nên số lượng nhóm VK này tăng đáng kể là $37\div 56.10^3$ CFU/g ở các công thức thí nghiệm cố định đạm, tạo NAA giúp hệ rễ sinh trưởng tốt hơn trước.

Nhóm *Azospirillum*: Trước khi thực hiện thí nghiệm không thấy có sự tồn tại của nhóm VK này trong mẫu đất được kiểm tra. Sau thí nghiệm, mẫu đất ở công thức thí nghiệm thấy sự xuất hiện nhóm VK *Azospirillum* là do sự bổ sung chế phẩm sinh học có chứa nhóm VK này. Như vậy, nhóm VK này đã thích ứng được với đất trồng hồ tiêu Tây Nguyên.

Nhóm *Acetobacter* trước thực hiện thí nghiệm, nhóm VK này tồn tại trong đất với số lượng đạt 5.10^3 CFU/g. Sau khi triển khai thí nghiệm, số lượng nhóm VK này gần như không có sự biến động ở mẫu ĐC1 và ĐC2. Nhờ sự bổ sung thêm chế phẩm sinh học chứa nhóm VK này nên số lượng nhóm VK này tăng nhanh, gấp 100 lần so với trước thí nghiệm.

Kết quả đánh giá nhóm VK phân giải lân trong các mẫu đất trồng hồ tiêu cho thấy trước khi tiến hành thí nghiệm nhóm VK này tồn tại trong mẫu đất với số lượng khoảng 10^4 CFU/g. Sau thí nghiệm, số lượng nhóm VK này không có sự biến động ở cả mẫu ĐC1 và

ĐC2. Nhờ sự bổ sung thêm chế phẩm sinh học chứa nhóm VK này nên số lượng nhóm VK này tăng đáng kể đạt $7,4 - 10,2.10^5$ CFU/g.

Từ những kết quả thu được có thể thấy, việc kết hợp các chế phẩm sinh học đã mang lại hiệu quả góp phần cải tạo đất trồng hồ tiêu đáp ứng được tiêu chí phát triển bền vững.

Mật độ bào tử nấm gây bệnh cho hồ tiêu có sự biến động khác nhau giữa các chủng nấm gây bệnh. Nhìn chung, mật độ bào tử nấm *Phytophthora* sp., *Pythium* sp. và *Fusarium* sp. giảm vào cuối vụ ở các công thức thí nghiệm. Trong khi ở công thức ND, mật độ bào tử nấm *Phytophthora* sp. tăng mạnh vào cuối vụ, bào tử nấm *Pythium* sp. và *Fusarium* sp. có xu hướng giảm nhẹ vào cuối vụ. Tương tự, với công thức đối chứng áp dụng theo qui trình của bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn có mật độ bào tử *Fusarium* sp. tăng mạnh vào cuối vụ, mật độ bào tử nấm *Phytophthora* sp. và *Pythium* sp. giảm nhẹ. Như vậy, giảm lượng phân hóa học, kết hợp sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học giúp làm giảm đáng kể mật độ nấm gây bệnh ở cây hồ tiêu so với cách canh tác của người dân và công thức đối chứng áp dụng theo qui trình của bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

Bảng 3.6.46. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến biến động nhóm vật sinh có hại trong đất trước và sau thí nghiệm

Công thức	<i>Fusarium</i> (10^2 CFU/100g đất)	<i>Pythium</i> sp. (10^1 CFU/100g đất)	<i>Phytophthora</i> (10^2 CFU/100g đất)	<i>Meloidogyne</i> (cá thể/100g đất)
Trước TN	1,11	3,19	1,65	94
CT1	1,09	1,13	0,67	21
CT2	0,31	2,01	0,89	32
CT3	0,30	1,79	0,72	35
CT4	0,11	0,13	0,81	24
CT5	0,32	0,19	0,71	23
CT6	0,11	0,22	0,56	22
ĐC1	0,95	4,06	1,66	70
ĐC2	1,01	2,54	1,63	85

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Hồ tiêu là cây trồng mẫn cảm với hầu hết các loại nấm gây bệnh, là ký chủ cho hầu hết các loại bệnh gây hại. Trong số đó bệnh chết nhanh hồ tiêu, bệnh đốm lá, bệnh thối rễ là những bệnh gây nguy hiểm nhất trên hồ tiêu và cũng là nấm bệnh mà khả năng phòng trừ rất khó khăn. Trong công thức thí nghiệm đã sử dụng biện pháp bổ sung các chủng VSV có lợi, có chức năng đối kháng nấm gây bệnh như các chủng *Bacillus* sp., *Streptomyces*

diastatochromogenes, *Penicillium oxalicum* (trong phân bón hữu cơ vi sinh POLYFA TN3) và chủng *P. fluorescens* (chế phẩm HOTIEU HTD-03), làm giảm mật độ bào tử nấm gây bệnh trong đất trồng hồ tiêu, giữ mật độ bào tử nấm gây bệnh ở mức thích hợp, không bùng phát, qua đó có thể khống chế bệnh gây hại trên hồ tiêu, đặc biệt là dịch chết nhanh, chết chậm và vàng lá.

b. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng một số chất trong lá hồ tiêu

Nhiều nghiên cứu trước đây chỉ ra có thể xác định nhu cầu bón phân của cây trồng thông qua chẩn đoán dinh dưỡng NPK trong lá. Các nhà khoa học cũng khẳng định hoàn toàn có thể áp dụng phương pháp chẩn đoán nhu cầu dinh dưỡng qua lá để sử dụng phân bón để sử dụng phân bón hợp lý, tiết kiệm đồng thời nâng cao chất lượng nông sản. Chính vì vậy, tiến hành đánh giá ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hàm lượng một số chất trong lá hồ tiêu. Kết quả thể hiện bảng 3.6.47.

Bảng 3.6.47. Biến động hàm lượng một số chất dinh dưỡng trong lá

Công thức	Hàm lượng đạm (%)	Hàm lượng lân (%)	Hàm lượng kali (%)
Trước thí nghiệm	3,42	0,37	2,67
CT1	2,93	0,29	1,8 ns
CT2	2,56	0,26	1,9
CT3	2,33	0,19	1,8
CT4	2,05	0,15	1,82
CT5	1,89	0,13	1,84
CT6	1,65	0,11	1,75
ĐC1	3,40	0,34	1,9
ĐC2	3,42	0,35	1,85

Trước TN: lấy mẫu tại các thời điểm 7 ngày trước bón phân (tháng 2, 5, 7 và 9/2018). CT1-6: lấy mẫu tại thời điểm 30 ngày sau bón phân. ns: Sai khác không có ý nghĩa

Trước thí nghiệm hàm lượng các chất dinh dưỡng N, P và K lần lượt là 3,42%, 0,37% và 2,67%, đối chiếu theo thang dinh dưỡng cho cây hồ tiêu do Sadananda và cs đưa ra, nhận thấy: hàm lượng N trong lá ở mức quá thừa, P ở mức cao, hàm lượng K ở mức tốt. Điều này cho thấy mức bón phân những năm trước ở mức quá cao đặc biệt là phân đạm, đây là thực trạng nhiều năm canh tác hồ tiêu của vùng Tây Nguyên. Chính vì vậy, tiến hành xây dựng các công thức tăng sử dụng phân hữu cơ, giảm phân vô cơ, đặc biệt là phân đạm. Kết quả sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học, giảm lượng phân cho thấy, hàm lượng các chất dinh dưỡng N, P, K giảm mạnh ở các công thức thí nghiệm và giảm mạnh nhất ở CT6. Tuy nhiên, xét theo thang chuẩn dinh dưỡng N, P, K trong lá hồ tiêu nhận thấy, các

công thức thí nghiệm đều có hàm lượng các chất dinh dưỡng N, P và K ở mức rất tốt. Chúng tôi sử dụng các chế phẩm sinh học, thay thế và giảm lượng phân bón hóa học đã cải thiện đáng kể hàm lượng dinh dưỡng trong lá cây hồ tiêu theo hướng tích cực.

c. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến sinh trưởng phát triển cây hồ tiêu

Sinh trưởng của cây trồng bị chi phối rất lớn bởi chế độ dinh dưỡng. Một chế độ dinh dưỡng hợp lý sẽ giúp cây phát triển tốt bộ cành mang quả, là cơ sở cho năng suất cao. Nếu không cung cấp đầy đủ dinh dưỡng cây sẽ sinh trưởng chậm, cành cỗi, số cành mang quả ít, ngắn... năng suất sẽ giảm, đặc biệt cho những năm tiếp theo. Sau một năm thử nghiệm các công thức tích hợp, một số chỉ tiêu sinh trưởng phát triển của cây hồ tiêu thể hiện bảng 3.6.48.

Bảng 3.6.48. Chỉ tiêu sinh trưởng cây hồ tiêu trong các công thức tích hợp

Công thức	Sự tăng trưởng chiều dài cành cơ bản sau 6 tháng (cm)	Sự tăng trưởng chiều dài cành thứ cấp sau 6 tháng (cm)
CT1	19,4a	6,8b
CT2	18ab	6,5b
CT3	17,8b	6,1b
CT4	19,7a	7,4b
CT5	18,3a	6,9b
CT6	18,6a	7b
ĐC1	17,7b	5,2a
ĐC2	18,9a	5,1a

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; ns: Sai khác không có ý nghĩa

Qua kết quả xử lý số liệu thống kê thấy rằng khi sử dụng tích hợp các chế phẩm POLYFA TN3, HOTIEU HTD-03 và ANISAF SH01 trên hồ tiêu TKKD đã có sự khác nhau đáng kể về sinh trưởng với chỉ tiêu chiều dài cành cơ bản vào các tháng cuối niên vụ (từ tháng 11 trở đi) và sự sai khác này có ý nghĩa thống kê. Sinh trưởng chiều dài cành cơ bản tăng nhanh hơn so với đối chứng.

Sự tăng trưởng chiều dài cành có sự thay đổi khác nhau giữa các công thức thí nghiệm, trong đó sự tăng trưởng chiều dài cành ở các công thức thí nghiệm luôn cao hơn công thức đối chứng. Ở công thức 1, 4, 5 và 6, sự tăng trưởng chiều dài cành cao hơn hẳn các công thức thí nghiệm ĐC, ND nhưng không có sự khác biệt so với các công thức còn lại. Chúng tôi công thức sử dụng công thức phân bón giảm đi 25% - 35% lượng phân bón

hóa học, bổ sung phân bón hữu cơ vi sinh POLYFA TN3, HOTIEU HTD-03 có tác dụng thúc đẩy kích thích sự tăng trưởng về chiều dài cành trên hồ tiêu thời kỳ kinh doanh.

Như vậy, khi giảm đi lượng phân bón hóa học và bổ sung các chế phẩm sinh học sẽ làm cân bằng dinh dưỡng, giúp cây hấp thụ dinh dưỡng tốt hơn và thúc đẩy hình thành cành sơ cấp và thứ cấp nhiều hơn so với việc công thức ĐC và ND. Điều này có thể được giải thích khi giảm lượng phân bón vô cơ, bổ sung thay thế bằng các chế phẩm sinh học (chế phẩm HOTIEU HTD-03, POLYFA TN3) là các dạng phân bón hữu cơ vi sinh sẽ thúc đẩy sự phát triển của hệ vi sinh vật đất, phân giải các chất cây trồng khó hấp thu thành dạng dễ hấp thu cho cây trồng, tổng hợp một số chất dinh dưỡng cho cây trồng, khống chế các mầm bệnh tồn tại trong đất, nâng cao hiệu quả sử dụng và hấp thu phân bón. Bên cạnh đó, chế phẩm sinh học bổ sung vào các công thức thí nghiệm cung cấp một lượng lớn chất hữu cơ và mùn (phân bón cải tạo đất POLYFA TN3). Các chất này có tác dụng cải thiện trạng thái kết cấu đất, các keo mùn gắn các hạt đất với nhau tạo thành những hạt kết tốt, bền vững, từ đó ảnh hưởng đến toàn bộ hóa, lý tính của đất như tính thấm và giữ nước tốt hơn, sự hấp thu nhiệt và giữ nhiệt tốt hơn, chất hữu cơ xúc tiến các phản ứng hoá học, cải thiện điều kiện oxy hoá, gắn liền với sự di động và kết tủa của các nguyên tố vô cơ trong đất. Nhờ có nhóm định chức các hợp chất mùn nói riêng, chất hữu cơ nói chung làm tăng khả năng hấp phụ của đất, giữ được các chất dinh dưỡng, đồng thời làm tăng tính đệm của đất.

d. Yếu tố cấu thành năng suất và năng suất hồ tiêu

Bảng 3.6.49. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến chỉ tiêu cấu thành năng suất và năng suất hồ tiêu thời kỳ kinh doanh

Công thức	Số gié/ cành	Số quả/gié	Tỷ lệ rụng gié (%)	NS nhân (tấn/ha)
1	18,90 ab	20,24bc	10,2c	3,337 bc
2	19,00 ab	21,25ab	9,8c	3,597 abc
3	18,46 b	15,50d	10,2c	3,393 bc
4	18,82 ab	17,31cd	9,5c	3,553 abc
5	19,39 a	22,08ab	11,0C	3,640 abc
6	19,77 a	24,88a	10,5c	3,813 ab

ĐC1	17,89 c	16,79cd	13,0ab	3,423 bc
ĐC2	15,73 d	189,63c	14,19a	3,543 a

Ghi chú: Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; ns: Sai khác không có ý nghĩa

Các chỉ tiêu như tỷ lệ cành mang quả, tỷ lệ chùm quả trên cành, số quả trên chùm, tỷ lệ rụng gié là những yếu tố cấu thành năng suất quả. Vì vậy, để xác định năng suất cây hồ tiêu ở các công thức thí nghiệm, các chỉ tiêu cấu thành năng suất đã được xác định. Kết quả thể hiện ở bảng 3.6.49.

Công thức đối chứng và cách chăm bón của nông dân có số chùm quả trên cành có sự khác biệt so với công thức thí nghiệm. Trong lúc đó, số quả trên chùm ở công thức 4, 5, 6 cao nhất và không có sự khác biệt so với các công thức thí nghiệm còn lại. Tương tự, tỷ lệ rụng gié giảm ở các công thức thí nghiệm. Trong quá trình phát triển của quả, hồ tiêu thường xảy ra hiện tượng rụng quả non. Điều này có thể do nhiều nguyên nhân tác động: gió bão, sự va quệt của công cụ sản xuất hoặc mất cân đối về dinh dưỡng. Theo dõi tình hình rụng quả ở cây hồ tiêu dưới tác động của các yếu tố phân bón nhận thấy các công thức tích hợp có tác động làm giảm tỷ lệ quả rụng. Như vậy, kết hợp với số lượng quả trên chùm và số chùm quả trên cành, tỷ lệ rụng gié thì công thức 6 vượt trội hơn tất cả các công thức còn lại.

Kết quả thí nghiệm cho thấy, năng suất của hồ tiêu ở hầu hết các công thức không có sự khác biệt về mặt thống kê. Chỉ có công thức 3 có năng suất khác biệt so với phương pháp canh tác của nông dân và có sự khác biệt so với việc giảm 35% lượng phân bón hóa học. Kết quả nghiên cứu cho thấy năng suất hồ tiêu ở vườn thí nghiệm cao hơn hẳn so với số liệu thống kê của Faotat về năng suất hồ tiêu ở Việt Nam (2,7 tấn/ha) và cũng cao hơn hẳn so với giá trị trung bình của một số tỉnh Tây Nguyên. Như vậy, việc giảm phân bón hóa học đối với hồ tiêu không làm giảm năng suất của hồ tiêu so với đối chứng và so với phương pháp canh tác của nông dân.

e. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến chất lượng hạt hồ tiêu thương phẩm

Mẫu quả hồ tiêu được thu tại các công thức thí nghiệm và đối chứng của thí nghiệm: mỗi công thức thu 5 kg quả tươi, cách thu mẫu theo hướng dẫn tại TCVN 4889-89 (ISO 948: 1980). Sau đó phân tích các chỉ tiêu về chất lượng như: Độ ẩm, hàm lượng chất xơ, hàm lượng tro tổng số, hàm lượng piperin... các kết quả thu được trình bày ở bảng 3.6.50.

Kết quả phân tích đánh giá chất lượng hồ tiêu thu hái tại các công thức TN và đối chứng cho thấy: mẫu hồ tiêu thu được từ công thức thí nghiệm 5 và 6 có khối lượng khô tuyệt đối cao hơn so với mẫu hồ tiêu thu được từ mô hình đối chứng 1 (BNN) và mô hình đối chứng 2 (ND). Hàm lượng chất xơ của các mẫu hồ tiêu thu được từ các mô hình thí nghiệm đều có hàm lượng tương đương nhau. Các mẫu hồ tiêu thu được từ các công thức nghiên cứu tương đối sạch do có hàm lượng tạp chất lạ $\leq 0,1\%$. Các mẫu Hồ tiêu thu từ các công thức đều đạt chất lượng theo tiêu chuẩn TCVN 7038-2002.

Bảng 3.6.50. Chất lượng quả hồ tiêu (Lâm Đồng, 4/2019)

Chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử	ĐC	ND	CT1	CT2	CT3	CT4	CT5	CT6
TL khô tuyệt đối	%	TCVN 7040: 2002 (ISO 939: 1980)	44	40	42	44	44	44	45	45
Độ ẩm	%	TCVN 5613:2000	12,34	12,31	12,02	13,00	12,94	13,31	12,26	12,31
Tạp chất lạ (sạn, cát)	%	ISO 5985:2002	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1
Tro tổng số	%	TCVN 5612: 2000	3,75	3,75	3,72	3,55	3,64	3,75	3,74	3,75
Hàm lượng chất xơ	%	TCVN 4329 -2007	11,45	10,73	11,55	11,65	11,75	11,73	11,65	11,43
Hàm lượng piperin	%	TCVN 9683:2013 & ISO 5564: 1982	13,34	13,31	12,98	13,01	13,14	13,31	13,38	13,36

.Piperin là alkalonid và là thành phần hóa học quan trọng nhất của hồ tiêu tạo vị cay nồng của tiêu. Theo quy định, hàm lượng piperin của mẫu hồ tiêu $\geq 4\%$, các kết quả thu được cũng cho thấy các mẫu hồ tiêu thu được từ các công thức thí nghiệm và công thức đối chứng có hàm lượng piperin đạt yêu cầu theo TCVN 7038-2002.

Các chỉ tiêu dung trọng hạt (g/lít), tỷ lệ hạt lép (%) là những chỉ tiêu cuối cùng được dùng để đánh giá chất lượng hạt hồ tiêu thương phẩm dưới ảnh hưởng của các công thức tích hợp khác nhau, đặc biệt phục vụ trong công tác xuất khẩu sang thị trường các nước Đức, Mỹ. Như chúng ta đã biết, phần lớn các nông sản của ta sản xuất hiện nay chưa đạt

tiêu chuẩn xuất khẩu. Phẩm chất nông sản không chỉ được quy định bởi quy trình chế biến bằng công nghệ cao sau thu hoạch mà còn quyết định ngay trong quá trình sản xuất. Bởi vậy, để nâng cao phẩm chất nông sản cần phải bón phân hợp lý và cân đối.

Xem xét tác động của các công thức thí nghiệm đến các chỉ tiêu này chúng tôi nhận thấy: ở các công thức tích hợp sử dụng hợp lý các chế phẩm sinh học đã thu được sản phẩm hồ tiêu chất lượng hơn thể hiện ở tỷ lệ hạt lép giảm, dung trọng hạt tăng so với đối chứng. Điều này làm tăng giá trị sản phẩm tiêu thu hoạch vườn sử dụng tích hợp các chế phẩm.

Bảng 3.6.51. Ảnh hưởng của phân bón đến phẩm cấp tiêu hạt

Công thức	Dung trọng hạt (g/lít)		Tỷ lệ lép (%)
	Tiêu xô	Tiêu đã loại hạt lép	
1	489,7	525,0	5,7
2	489,9	524,2	5,1
3	490,1	530,2	5,3
4	497,6	534,0	5,2
5	494,5	532,0	4,9
6	496,6	533,3	4,9
ĐC1	490,5	522,5	6,0
ĐC2	489,0	516,8	5,1

f. Diễn biến sâu bệnh hại

Trong năm thực hiện thí nghiệm, điểm thực hiện thí nghiệm và đối chứng chủ yếu xuất hiện bệnh đốm lá và bệnh chết nhanh. Trong quá trình thực hiện thí nghiệm, tình hình xử lý thuốc BVTV hóa học ở các ô thí nghiệm và đối chứng như sau: ở mô hình thí nghiệm phun 2 lần thuốc BVTV hóa học để trừ nấm để phòng trừ bệnh đốm lá, trong khi đó ở mô hình đối chứng đã phun 2 lần thuốc BVTV hóa học để phòng trừ bệnh đốm lá và 2 lần sử dụng thuốc hóa học phòng trừ tuyến trùng và 2 lần phun thuốc diệt trừ rệp sáp. Như vậy, mô hình thí nghiệm đã giảm 50% thuốc BVTV hóa học phòng trừ nấm, giảm 100% thuốc bảo vệ hóa học trong phòng trừ tuyến trùng hồ tiêu so với đối chứng.

Ngoài ra, các vườn hồ tiêu thí nghiệm và đối chứng có xuất hiện rệp sáp hại hồ tiêu vào khoảng tháng 4. Tuy nhiên, tỉ lệ cây bị rệp sáp không đáng kể (chỉ khoảng 4,5%). Ở ô sử dụng ANISAF SH01 để phun phòng trừ rệp sáp, còn ở các đối chứng đã sử dụng 2 lần thuốc BVTV hóa học trừ rệp vào đầu mùa mưa nên tỉ lệ cây bị rệp sáp rất thấp và không đáng kể.

Việc theo dõi các chỉ tiêu thí nghiệm được thực hiện hàng tháng. Kết quả ghi nhận các loại bệnh khác nhau vào các thời điểm khác nhau trong năm và được ghi chép vào thời điểm bắt đầu xuất hiện bệnh đến thời điểm sau áp dụng các biện pháp xử lý.

Diễn biến rệp sáp hại hồ tiêu

Từ kết quả bảng 3.6.52 cho thấy tỉ lệ cây hồ tiêu bị rệp sáp có chiều hướng giảm mạnh tại thời điểm sau thí nghiệm so với thời điểm trước thí nghiệm ở các công thức thí nghiệm và công thức đối chứng. Đặc biệt, ở các công thức thí nghiệm chỉ sử dụng thuốc thảo mộc ANISAF SH01 không sử dụng thêm thuốc BVTV hóa học nào để phòng trừ rệp sáp, mức độ gây hại ở cả tỷ lệ cây bị bệnh và số lượng con/cây đều giảm mạnh. Điều này chứng tỏ, việc sử dụng chế phẩm ANISAF SH01 có tác dụng diệt trừ và phòng ngừa hiệu quả rệp sáp hại hồ tiêu.

Bảng 3.6.52. Ảnh hưởng của công thức tích hợp tới diễn biến rệp sáp trên cây hồ tiêu

Công thức	Tỷ lệ cây bị rệp sáp (%)	Số con/cây
Trước TN	4,5	35,5
CT1	1	9,0
CT2	2	10,5
CT3	2	9,5
CT4	1	9,0
CT5	1	7,5
CT6	1	8,5
ĐC1	3	13,0
ĐC2	3	15,0

Trước TN: đánh giá tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: đánh giá tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Diễn biến bệnh hại hồ tiêu

Bảng 3.6.53. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp tới diễn biến bệnh hại hồ tiêu

Công thức thí nghiệm	Tỉ lệ cây đốm lá (%)	Tỷ lệ cây bị vàng lá (%)
Trước TN	45	23
CT1	10	8
CT2	11	7
CT3	8	7
CT4	9	6
CT5	10	6

CT6	8	7
ĐC1	9	5
ĐC2	10	7

Trước TN: đánh giá tại các thời điểm 7 ngày trước thí nghiệm. CT1-6: đánh giá tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Ở các ô thí nghiệm sử dụng lượng thuốc hóa học phòng trừ nấm chỉ bằng $\frac{1}{2}$ so với đối chứng theo bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn và đối chứng của nông dân. Tuy nhiên, kết quả thí nghiệm cho thấy không có sự khác biệt về tỉ lệ cây bị bệnh đốm lá và vàng lá trên hồ tiêu. Điều này chứng tỏ, không có sự khác biệt rõ rệt giữa hiệu lực của thuốc hóa học trong phòng trừ bệnh so với việc kết hợp sử dụng thuốc hóa học và sinh học và giảm lượng thuốc hóa học trong phòng trừ bệnh so với việc sử dụng hoàn toàn thuốc hóa học như phương pháp đối chứng của Bộ NN-PTNT và đối chứng của nông dân.

g. Ảnh hưởng của các công thức tích hợp đến hiệu quả kinh tế

Các công thức sử dụng tích hợp các chế phẩm sẽ phát sinh thêm chi phí tăng từ -5.500.000đ - 3.000.000đ. Trong khi đó, thu nhập tăng lên do tăng năng suất so với ĐC1 dao động 7.990.000đ - 18.330.000đ, so với ĐC2 tăng dao động từ 2.350.000đ - 12.690.000đ.

Tính lãi suất cho hồ tiêu năm 2019 rất khó vì giá bán hồ tiêu quá thấp, thấp hơn giá thành nên rất khó tính toán và phân tích lợi nhuận. Giá hồ tiêu thời kỳ cao nhất đạt mức 180.000 - 200.000 đ/kg (năm 2014) nhưng sau đó giảm rất nhanh: giá bán năm 2018 là 60.000 đ/kg (người sản xuất đã thấy lỗ, hạn chế đầu tư) và giá bán năm 2019 là 47.000 đ/kg.

Do vậy, lợi nhuận lâu dài là khi sử dụng tích hợp các chế phẩm là cải thiện lý hóa đất đai theo hướng có lợi cho cây hồ tiêu, hệ VSV có ích trong đất tăng, mật độ các chủng VSV bị ức chế giảm, bộ rễ hồ tiêu phục hồi và tăng kích thích sinh trưởng số lượng rễ, qua đó giúp cây tăng khả năng kháng bệnh, tăng sinh trưởng cho những năm tiếp theo. Vì vậy, môi trường canh tác, năng suất và chất lượng hồ tiêu được cải thiện theo hướng bền vững.

Bảng 3.6.54. Sơ bộ thu nhập từ các ô thực hiện công thức thí nghiệm

Công thức	Năng suất (tấn/ha)	Thu nhập (1.000đ)	Thu nhập tăng chênh so với ĐC1	Thu nhập tăng chênh so với ĐC2
CT1	3,337	156.839	10.058	4.418
CT2	3,597	169.059	12.878	7.238
CT3	3,393	159.471	7.990	2.350

CT4	3,553	166.991	7.990	2.350
CT5	3,640	171.080	10.199	4.559
CT6	3,813	179.211	18.330	12.690
ĐC1	3,423	160.881		
ĐC2	3,543	166.521		

Ghi chú: giá bán hồ tiêu 34 triệu đồng/tấn

Bảng 3.6.55. Chi phí tăng thêm khi sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho hồ tiêu giai đoạn kinh doanh

DVT: 1.000 đ, cho 01 ha

Công thức	Chi thêm bón chế phẩm	Chi thêm công bón chế phẩm và thu hái	Chi giảm do giảm thuốc BVTV	Chi giảm do giảm phân hóa học	Chi giảm công phun thuốc BVTV	Chi phí tăng thêm so với ĐC*
1	2	3	4	5	6	8
CT1	27.800	1.500	16.800	7.500	1.000	3.000
CT2	27.800	1.500	16.800	9.000	1.000	1.500
CT3	27.800	1.500	16.800	10.500	1.000	0
CT4	27.800	1.500	16.800	13.000	1.000	-2.500
CT5	27.800	1.500	16.800	14.000	1.000	-3.500
CT6	27.800	1.500	16.800	16.000	1.000	-5.500

Ghi chú: giá phân bón POLYFA TN3: 4 triệu đồng/tấn; Anisaf SH01: 120.000 đồng/lít; HOTIEU HTD-03: 60.000đ/kg; công lao động 200.000 đ/công; giá bán hồ tiêu 34 triệu đồng/tấn.

Cột * tính bằng = cột 2 + cột 3 + cột 4 – cột 5 – cột 6

3.7.6.3. Đề xuất quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học trên cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh

Căn cứ kết quả đã trình bày ở trên, đề xuất quy trình tích hợp các chế phẩm sinh học bao gồm chế phẩm CAFE HTD-01, POLYFA TN3 và thuốc trừ sâu sinh học ANISAF SH01 cho cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh.

Mô tả quy trình

- Chuẩn bị nguyên vật liệu:

a/ Chế phẩm HOTIEU HTD-03:

- Phân hữu cơ đã hoai mục: 12 tấn
- NPK: 50kg
- Chế phẩm HOTIEU HTD-03: 30 kg
- Chế phẩm Trichoderma tinh: 2 kg

Cách ủ:

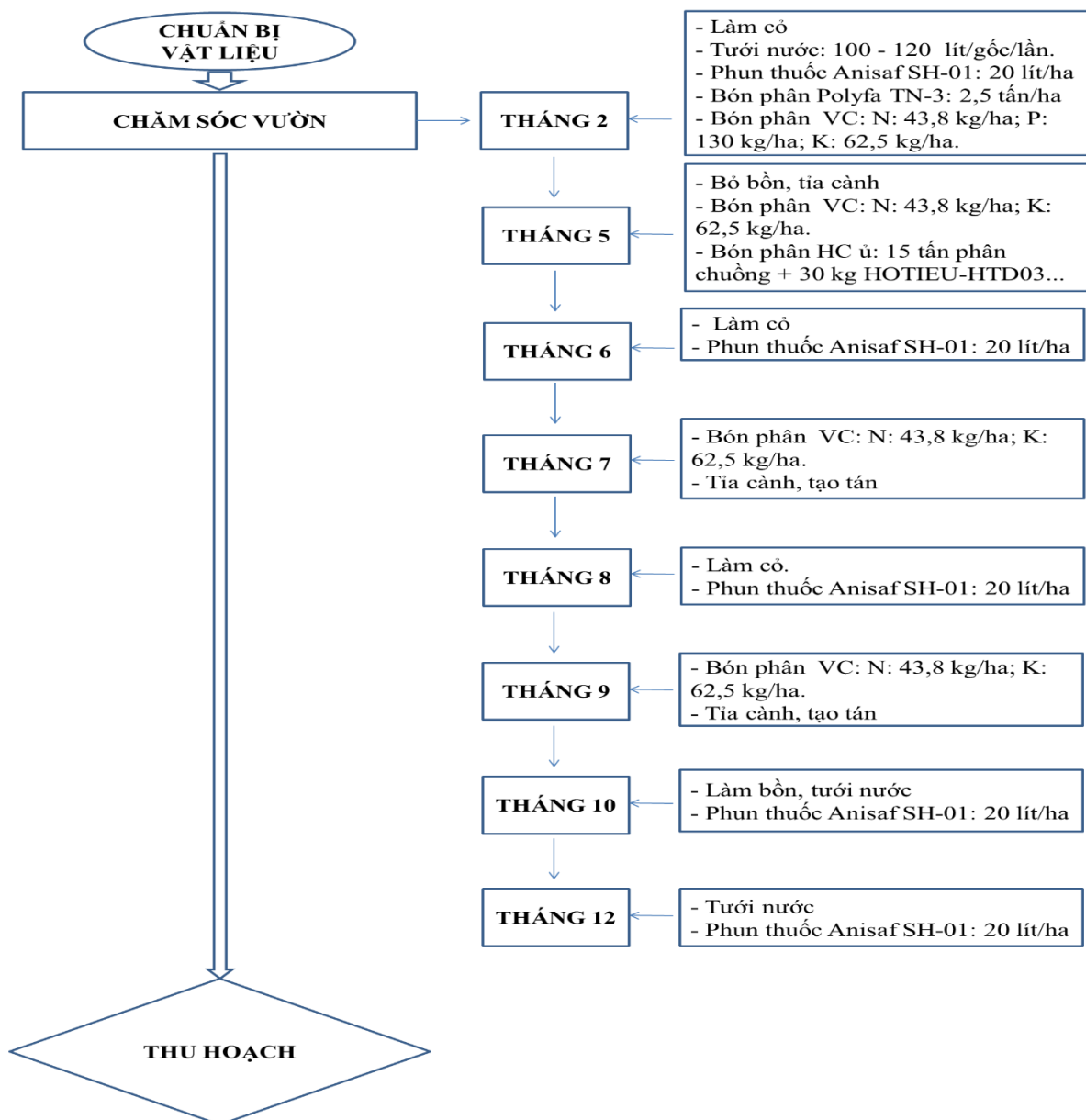
Hòa chế phẩm HOTIEU HTD-03 vào 150 lít nước, để thời gian 3-5 tiếng đồng hồ cho tan đều.

Tiến hành ủ: Hỗn hợp phân hữu cơ (hoặc phân chuồng) + NPK + dung dịch chế phẩm HOTIEU HTD-03 được trộn đều. Tưới thêm nước bảo đảm đủ ẩm từ 50 - 60% (lấy một nắm bóp chặt thấy rỉ nước ra kẽ tay là được). Đánh đống, phủ bạt để giữ ẩm. Tuyệt đối không được nén chặt đống ủ (không dẫm đạp lên đống ủ).

Sau khi ủ 10 ngày thu được phân bón hữu cơ vi sinh có thể mang đi bón cho cây.

Chú ý:

- Không sử dụng nước máy để ủ.
- Phân vi sinh không trộn chung với phân chuồng chưa hoai mục.
- Không được phơi phân vi sinh dưới ánh nắng mặt trời (Khi trộn phải tiến hành nơi râm mát).



Hình 6.3.4. Sơ đồ quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh

b/ Thuốc trừ sâu sinh học ANISAF SH01 :

Nồng độ tưới: 0,7%

Cách pha:

Lấy 700 ml thuốc ANISAF SH01 pha với 99,3 lít nước để được 100 lít thuốc đã pha.

Để pha 20 lít thuốc ANISAF SH01 cần pha với 2837 lít nước để được 2839 lít thuốc.

● **Chăm sóc vườn cây:**

Tháng 2:

Bước 1: Phun thuốc ANISAF SH01 :

- Liều lượng: khoảng 3,8 lít/gốc, nồng độ: 0,7%
- Cách thức: Tưới phun vào cả cành, lá và gốc cây cà phê.
- Chú ý: Làm sạch lá, cỏ quanh phần gốc sẽ tưới thuốc để đảm bảo thuốc được ngấm trực tiếp xuống đất nơi có rễ cây, giúp cây có thể hút được thuốc; Tưới vào lúc râm mát. Không tưới thuốc vào lúc trời mưa hay quá nắng để đảm bảo cây hút thuốc được tốt nhất và tránh thuốc bị rửa trôi. Phun thuốc sau khi thu hoạch quả.

Bước 2: Bón phân:

Phân vô cơ: Bón phân khi đất đủ ẩm. Phân được bón rải lên mặt đất theo mép tán, xới nhẹ. Phân vô cơ bón với liều lượng: Urê: 43,8 kg/ha, Lân nung chảy: 100 kg/ha, Kaliclorua: 62,5 kg/ha;

Phân hữu cơ POLYFA TN3: Phân được bón theo rãnh, được đào sâu 10 - 15 cm, bón khoảng 1,5 kg phân/gốc hồ tiêu, sau đó thì lấp đất lại. Chú ý trong quá trình đào không làm tổn thương bộ rễ.

Tháng 5:

Cắt tỉa, tạo dáng:

- Cắt tỉa, tạo tán nhằm: Tạo cho cây tiêu có hình dáng thích hợp để sử dụng khoảng không gian hợp lý trong trụ tiêu giúp cây quang hợp một cách tốt, sinh trưởng và phát triển tốt cho năng suất cao. Loại bỏ cành già yếu, cành sâu bệnh, cành không cho quả, cành lươn. Tạo độ thông thoáng cho vườn hạn chế được sâu bệnh gây hại. Giúp cây tập trung dinh dưỡng nuôi quả và các cành hữu hiệu cho năm sau. Tiết kiệm được chi phí đầu tư.

- Kỹ thuật cắt: Sau khi thu hoạch tỉa bỏ tất cả các dây thân, dây lươn, cành quả mọc phía dưới gốc tiêu, bảo đảm tán lá cách mặt đất 20 – 25 cm. Dây lươn chỉ giữ lại khi có nhu cầu nhân giống. Tỉa bỏ các dây thân mọc ngoài bộ tán tiêu, dây thân mọc quá dài ở đỉnh trụ, cành yếu ớt, cành bị sâu bệnh hại nặng. Hàng năm cắt tỉa cành 2-3 lần, chú ý cắt tỉa vào những ngày khô ráo, và sử dụng nhiều kéo để cắt. Sau khi cắt xong mỗi trụ phải tiến hành khử trùng dụng cụ bằng nước vôi loãng 3-5% để tránh vi rus gây bệnh xâm nhiễm từ cây này sang cây khác.

- Rong tỉa cây che bóng và cây trụ sống: cần rong tỉa cây trụ sống và cây che bóng để tiêu có đầy đủ ánh sáng thích hợp. Rong mạnh, chỉ để lại một cành nhỏ quang hợp hoặc

có thể chặt ngang ngọn đối với các loại cây có khả năng tái sinh mạnh như muồng đen, keo dậu. Chú ý không để ngọn dây tiêu leo lên cây trụ sống đã hãm ngọn.

Bỏ bồn: bỏ bồn, làm mương thoát nước cho vườn tiêu. Cứ 3-5 hàng tiêu phải đào một mương thoát nước, mương có chiều rộng khoảng 40 cm, sâu 50-60 cm, dài theo lô, có hướng ngược và vuông góc với hướng dốc của lô (vườn), để tránh sỏi mòn, thoát nước tốt, chống úng vườn tiêu trong mùa mưa.

Bón phân:

Phân vô cơ: Bón phân khi đất đủ ẩm. Phân được bón vào rãnh hoặc vào hốc cách gốc 30 - 40 cm và lấp đất lại, không nên trộn phân lân với phân đạm. Phân vô cơ bón với liều lượng: Urê: 43,8 kg/ha, Kaliclorua: 62,5 kg/ha;

Phân hữu cơ ủ với chế phẩm CAFE HTD-01 và chế phẩm Trichoderma: Phân được bón theo rãnh, được đào dọc theo một bên thành bồn 20 cm, sâu 25 - 30 cm, bón khoảng 12 kg phân/gốc cà phê, sau đó thì lấp đất lại.

Tháng 6:

Làm cỏ: làm sạch cỏ cho vườn tiêu, nhổ cỏ quanh gốc bằng tay, hạn chế dùng cuốc để làm cỏ, tránh làm tổn thương đến bộ rễ tiêu.

Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

Tháng 7:

Bón phân:

Phân vô cơ: liều lượng: Urê: 43,8 kg/ha, Kaliclorua: 62,5 kg/ha. Cách thức tương tự tháng 2.

Tháng 8:

Làm cỏ: làm sạch cỏ cho vườn tiêu, nhổ cỏ quanh gốc bằng tay, hạn chế dùng cuốc để làm cỏ, tránh làm tổn thương đến bộ rễ tiêu.

Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 2.

Tháng 9:

Bước 1: Tia cành, tạo tán: Tương tự tháng 7.

Bước 3: Bón phân:

Phân vô cơ: liều lượng: Urê: 43,8 kg/ha, Kaliclorua: 62,5 kg/ha. Cách thức tương tự tháng 2.

Tháng 10:

Làm cỏ: làm sạch cỏ cho vườn tiêu, nhổ cỏ quanh gốc bằng tay, hạn chế dùng cuốc để làm cỏ, tránh làm tổn thương đến bộ rễ tiêu.

Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 2.

Tháng 12:

Bước 1: Tạo bồn:

Bước 2: Tưới nước: Trước thời điểm thu hoạch 10-15 ngày ngừng tưới nước (không tưới) để tiêu chín tập trung. Sau khi thu hoạch xong ngừng tưới nước từ 40 – 45 ngày để cây có đủ thời gian phân hoá mầm hoa của vụ tới (ngừng tưới nước tầm tháng 2 và tháng 3). Đến khi vườn cây có biểu hiện héo nhẹ thì tưới nước trở lại. Trường hợp trong quá trình cắt nước gây ức chế ra hoa gặp phải thời tiết mưa sớm chưa đến kỳ tưới nước thì phải tiến hành tưới nước để cây đủ lượng nước ra mầm hoa, đồng thời phun thêm thuốc kích thích ra hoa từ 1-2 lần để cây phân hóa mầm hoa và ra hoa đồng loạt, có thể dùng các loại thuốc sau được phép sử dụng trên cây tiêu: Super siêu 16SL, Tungaba 20T, ProGibb 40WSG... Pha theo nồng độ khuyến cáo. Cách thức, liều lượng tưới: Tưới gốc: 100 - 120 lít/trụ/lần.

Bước 3: Phun thuốc ANISAF SH01 : cách thức, liều lượng phun tưới tương tự tháng 1.

Bước 4: Tủ gốc dùng rơm rạ hoặc các loại tàn dư thực vật khác như vỏ ngô, dây đậu, cỏ rác cây phân xanh, đậu đỗ v.v... tủ xung quanh gốc tiêu, cách gốc hồ tiêu khoảng 10-15 cm, khối lượng chất tủ từ 10-15 kg vật liệu tủ/trụ..

2.3.3. Thu hoạch

Sau khi ra hoa và đậu quả, tiêu thường mất từ 8 đến 10 tháng mới chín, tùy vào điều kiện thời tiết và giống trồng mà thời gian thu hoạch tiêu cũng thay đổi theo. Thông thường ở các tỉnh Tây Nguyên thường được thu hoạch vào tháng 2 hoặc tháng 3:

Tiêu thường phải thu hoạch bằng tay và thường chia làm 2 đến 3 đợt trong một vụ thu hoạch. Nếu chế biến tiêu đen bà con có thể hái cả chùm trái khi trên gié đã có xuất hiện quả chín hoặc chùm quả đã già, khi quả già thường có màu vàng xanh. Không nên hái những chùm tiêu còn xanh non trừ khi đó là đợt hái cuối cùng của vụ bởi nếu hái tiêu quá sớm hạt tiêu sẽ bị lép.

Trước khi hái tiêu một tháng bà con nên làm sạch cỏ và thu dọn tàn dư trong vườn để quá trình thu hoạch được thuận lợi hơn. Thông thường bà con nên sử dụng bạt để trải ở dưới tán tiêu để dễ dàng hái và thu gom. Trải bạt cũng giúp hái nhanh và giúp tiêu không bị rơi ra ngoài, trong quá trình ta có thể trải bạt hái theo 1 hàng hoặc 3 bạt hái 1 hàng miễn sao bạt phải phủ kín được quanh gốc tiêu, các mối bạt phải đủ kín.

Quy trình được sử dụng để xây dựng mô hình trình diễn ở nội dung tiếp theo.

3.8. XÂY DỰNG MÔ HÌNH TRÌNH DIỄN SỬ DỤNG TÍCH HỢP CÁC CHẾ PHẨM SINH, HÓA HỌC NHẪM PHÁT TRIỂN HIỆU QUẢ VÀ BỀN VỮNG CÂY CÀ PHÊ VÀ HỒ TIÊU Ở TÂY NGUYÊN

Sau khi lựa chọn được 04 quy trình tích hợp các chế phẩm sinh hoá học sử dụng cho mục đích phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên (kết quả mục 7, chương 3). Để đánh giá kết quả trên thực tế canh tác, các quy trình tiếp tục được triển khai trên 04 mô hình trình diễn trong thời gian từ tháng 1-tháng 12 năm 2019. Các mô hình được thực hiện với (1). Cây cà phê Robusta ở 3 giai đoạn kiến thiết, kinh doanh và cuối kinh doanh, mật độ trung bình 1100 cây/ha, trồng trên đất đỏ bazan (3 mô hình) và (2). Cây hồ tiêu kinh doanh, mật độ 1600 trụ cây/ha, trồng trên đất đỏ bazan.

Các chỉ tiêu đánh giá bao gồm:

Đối với cà phê: *Theo dõi về sinh trưởng phát triển của cây cà phê*: Số cặp lá mới ra trên cành theo dõi, tăng trưởng chiều dài cành; *Theo dõi về năng suất*: tỷ lệ đậu hoa, tỷ lệ đậu quả, số cành mang quả trên cây, số chùm quả, số quả trên chùm, năng suất cà phê cả năm (kg/ha), tỉ lệ nhân/quả tươi; *Đánh giá chất lượng đất trồng*: Lấy mẫu trước và sau khi triển khai mô hình để phân tích các chỉ tiêu: pH, EC, mùn, acid humic, NPK tổng số và để tiêu một số chỉ tiêu trung lượng như Mg, S và một số VSV đặc thù trong đất; hàm lượng kim loại nặng phổ biến trong đất như Pb, As; *Đánh giá tình hình sâu bệnh của các mô hình*: Một số sâu bệnh hại chính trên cây cà phê; *Đánh giá tổng quan chất lượng nguồn nước tưới*: pH, hàm lượng kim loại nặng bao gồm Pb, As; *Đánh giá về chất lượng sản phẩm cà phê của các mô hình*: Các chỉ tiêu về chất lượng: Hàm lượng cafein, tổng hàm lượng tro, tro không tan trong acid, tổng hàm lượng chất tan, hàm lượng thuốc BVTV và kim loại nặng trong hạt.

Đối với hồ tiêu: *Theo dõi về năng suất*: số cành mang quả trên cây, số gié/chùm, số quả trên gié, năng suất hồ tiêu (kg/ha) lý thuyết, năng suất khô lý thuyết; *Đánh giá chất lượng đất trồng*: Lấy mẫu trước và sau khi triển khai mô hình để phân tích các chỉ tiêu: mùn, acid humic, NPK tổng số và để tiêu một số chỉ tiêu trung lượng như Mg, S và một số VSV đặc thù trong đất; tuyến trùng ký sinh tổng số trong đất và trong rễ; hàm lượng kim loại nặng phổ biến trong đất như Pb, As; *Đánh giá tình hình sâu bệnh của mô hình*: Một số sâu bệnh hại chính trên cây hồ tiêu; *Đánh giá tổng quan chất lượng nguồn nước tưới*: một số chỉ tiêu sinh lý hóa như pH, hàm lượng kim loại nặng Pb, As; *Đánh giá về chất lượng sản phẩm hồ tiêu của các mô hình*: Các chỉ tiêu về chất lượng: tổng hàm lượng tro, tro không tan trong acid, tổng hàm lượng chất tan, hàm lượng thuốc BVTV và kim loại nặng trong hạt.

Kết quả triển khai các mô hình được tổng hợp dưới đây:

3.8.1. Xây dựng mô hình trình diễn cho cây cà phê giai đoạn kiến thiết

(1). Quy mô: 5-10 ha.

(2). Mô hình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học bao gồm: chế phẩm CAFE HTD-01, chế phẩm POLYFA TN3, phân nhả chậm NPK và thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 thay thế và giảm lượng phân bón (25% - 35%) và thuốc trừ BVTV hóa học (30% - 50%) trong canh tác cà phê giai đoạn kiến thiết ở Tây Nguyên. Mô hình sử dụng quy trình kỹ thuật mô tả ở mục 7.3.3.

(3). Yêu cầu mô hình ổn định, cây trồng sinh trưởng phát triển tốt, rút ngắn thời kỳ chuyển tiếp tối thiểu 1 năm, năng suất thu hoạch đảm bảo, chất lượng nông sản đạt vệ sinh an toàn thực phẩm theo quy định hiện hành.

(4). Mô hình thử nghiệm trên cây cà phê giai đoạn kiến thiết được thực hiện tại các huyện ở tỉnh Lâm Đồng với tổng diện tích là 8 ha. Địa điểm cụ thể như sau:

* *Địa điểm 1 (ký hiệu: KT1)*

- Tên chủ hộ: Ông Nguyễn Đình Thắng

- Địa chỉ cư trú: Nhà thờ Tà Nung, tổ 17, Thôn 3 xã Tà Nung, Đà Lạt.

* *Địa điểm 2 (ký hiệu: KT2)*

- Tên chủ hộ: Ông Nguyễn Quốc Bình

- Địa chỉ cư trú: Tổ 7, Sóc Sơn xã Nam Hà, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng

* Địa điểm 3 (ký hiệu: KT3)

- Tên chủ hộ: Ông Hoàng Xuân Chiến

- Địa chỉ cư trú: Thôn Sóc Sơn, xã Nam Hà, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng.

* Địa điểm 4 (ký hiệu: KT4)

- Tên chủ hộ: Ông Lê Đình Lộc

- Địa chỉ cư trú: 233 Hùng Vương, tổ dân số 3 thị trấn Di Linh, huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng.

Bảng 3.7.1. Kết quả mô hình tích hợp các chế phẩm sinh, hoá học trên cây cà phê giai đoạn kiến thiết

Địa điểm thực hiện	Công thức	Diễn biến sâu bệnh hại		NĂng suất		Hiệu quả kinh tế	
		Tỉ lệ cây bị rệp sáp giảm sau một vụ (%)	Tỉ lệ cây bị thán thư giảm sau một vụ (%)	Tăng so với ĐC1 (%)	Tăng so với ĐC1 (%)	Tăng so với ĐC1 (đồng)	Tăng so với ĐC1 (đồng)
KT1	MH	21,33	11,33	20,4	30,7	19.596.750	25.736.750
	ĐC1	21,34	4,67				
	ĐC2	17,33	4				
KT2	MH	34,67	5,33	Vườn giai đoạn kiến thiết 1 năm tuổi chưa cho thu hoạch			
	ĐC1	42,67	3				
	ĐC2	36,6	2,66				
KT3	MH	39,33	2,66	21,9	35,3	19.596.750	27.391.750
	ĐC1	35,33	2				
	ĐC2	34	2				
KT4	MH	2	2	Vườn giai đoạn kiến thiết 1 năm tuổi chưa cho thu hoạch			
	ĐC1	0,26	1,33				
	ĐC2	0,93	0,73				

Ghi chú: MH: mô hình tích hợp; ĐC1: theo quy trình của Bộ NN và PTNT; ĐC2: phương thức canh tác của nông dân.

(5). Mô hình thí nghiệm (TN) trên diện tích 6 ha sử dụng quy trình tích hợp đã thiết lập tại mục 7.3. (bảng 3.7.QTKT). Mô hình đối chứng (ĐC1) trên diện tích 1 ha: bón phân và chăm sóc theo quy trình của ngành nông nghiệp 10TCN 478-2001, quyết định ban hành số 2085/QĐ-BNN-TT ngày 31/5/2016 và cẩm nang khuyến nông của sở nông nghiệp và phát triển nông thôn tỉnh Lâm Đồng. Mô hình tham khảo canh tác của nông dân (ĐC2) trên diện tích 1 ha, theo canh tác đại trà của các hộ nông dân.

Thời gian: Từ 1/2019 đến 10/2019.

3.8.2. Xây dựng mô hình trình diễn cho cây cà phê giai đoạn kinh doanh

(1). Quy mô: 12 ha.

(2). Mô hình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học bao gồm: chế phẩm CAFE HTD-01, chế phẩm POLYFA TN3, phân nhả chậm NPK và thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 thay thế và giảm lượng phân bón (25% - 35%) và thuốc trừ BVTV hóa học (30% - 50%) trong canh tác cà phê giai đoạn kinh doanh ở Tây Nguyên. Mô hình sử dụng quy trình kỹ thuật mô tả ở mục 7.4.3.

(3). Yêu cầu mô hình ổn định, cây trồng sinh trưởng phát triển tốt, năng suất thu hoạch đảm bảo, chất lượng nông sản đạt vệ sinh an toàn thực phẩm theo quy định hiện hành.

Mô hình thử nghiệm trên cây cà phê giai đoạn kinh doanh được thực hiện tại các huyện ở tỉnh Lâm Đồng với tổng diện tích là 12 ha. Địa điểm cụ thể như sau:

** Địa điểm 1: kí hiệu KD1*

- Tên chủ hộ: Ông Bùi Văn Núi

- Địa chỉ cư trú: Tổ dân phố 11, thị trấn Di Linh, huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng

** Địa điểm 2: kí hiệu KD2*

- Tên chủ hộ: Ông Đoàn Thế Hiệu

- Địa chỉ cư trú: Thôn An Bình, xã Liên Hiệp, huyện Đức Trọng, tỉnh Lâm Đồng.

** Địa điểm 3: kí hiệu KD3*

- Tên chủ hộ: Ông Nguyễn Quốc Bình

- Địa chỉ cư trú: Tổ 7, Sóc Sơn, xã Nam Hà, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng

** Địa điểm 4: kí hiệu KD4*

- Tên chủ hộ: Ông Nguyễn Duy Khoa

- Địa chỉ cư trú: Xóm 2, Thôn 2, xã Mê Linh, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng.

Mô hình thí nghiệm (TN) trên diện tích 10 ha sử dụng quy trình tích hợp đã thiết lập tại mục 7.4. (bảng 3.7.2). Mô hình đối chứng (ĐC1) trên diện tích 1 ha: bón phân và chăm sóc theo quy trình của ngành nông nghiệp 10TCN 478-2001, quyết định ban hành số 2085/QĐ-BNN-TT ngày 31/5/2016 và cẩm nang khuyến nông của sở nông nghiệp và phát triển nông thôn tỉnh Lâm Đồng. Mô hình tham khảo canh tác của nông dân (ĐC2) trên diện tích 1 ha, theo canh tác đại trà của các hộ nông dân.

Thời gian: Từ 1/2019 đến 10/2019.

Bảng 3.7.2. Kết quả mô hình tích hợp các chế phẩm sinh, hoá học

trên cây cà phê giai đoạn kinh doanh

Địa điểm thực hiện	Công thức	Diễn biến sâu bệnh hại		NĂng suất		Hiệu quả kinh tế	
		Tỉ lệ cây bị rệp sáp giảm sau một vụ (%)	Tỉ lệ cây bị gỉ sắt giảm sau một vụ (%)	Tăng so với ĐC1 (%)	Tăng so với ĐC1 (%)	Tăng so với ĐC1 (đồng)	Tăng so với ĐC1 (đồng)
KD1	MH	48,67	20,67	29,2	24,1	73.715.000	69.040.000
	ĐC1	54,66	14,67				
	ĐC2	56	14,67				
KD2	MH	43,34	26,67	52,4	39,8	98.250.000	79.935.000
	ĐC1	41,33	24,67				
	ĐC2	42	24				
KD3	MH	40	10,69	42,0	34,4	65.175.000	62.660.000
	ĐC1	37,34	10,47				
	ĐC2	37,33	10,66				
KD4	MH	13,66	12,92	33,7	32,0	41.335.000	30.805.000
	ĐC1	11,33	12				
	ĐC2	10,66	12,67				

Ghi chú: MH: mô hình tích hợp; ĐC1: theo quy trình của Bộ NN và PTNT; ĐC2: phương thức canh tác của nông dân

3.8.3. Xây dựng mô hình trình diễn cho cây cà phê cuối giai đoạn kinh doanh

(1). Quy mô: 10,5 ha.

(2). Mô hình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học bao gồm: chế phẩm CAFE HTD-01, chế phẩm POLYFA TN3, phân nhả chậm NPK và thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 thay thế và giảm lượng phân bón (25% - 35%) và thuốc trừ BVTV hóa học (30% - 50%) trong canh tác cà phê cuối giai đoạn kinh doanh ở Tây Nguyên. Mô hình sử dụng quy trình kỹ thuật mô tả ở mục 7.5.3.

(3). Yêu cầu mô hình ổn định, cây trồng sinh trưởng phát triển tốt, năng suất thu hoạch đảm bảo, chất lượng nông sản đạt vệ sinh an toàn thực phẩm theo quy định hiện hành.

Mô hình thử nghiệm trên cây cà phê cuối giai đoạn kinh doanh được thực hiện tại các huyện ở tỉnh Lâm Đồng với tổng diện tích là 10,5 ha. Địa điểm cụ thể như sau:

* *Địa điểm 1 (ký hiệu: SKD1)*

- Tên chủ hộ: Ông Lê Đình Lộc

- Địa chỉ cư trú: 233 Hùng Vương, tổ dân số 3, thị trấn Di Linh, huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng

* *Địa điểm 2 (ký hiệu: SKD2)*

- Tên chủ hộ: Bà Phùng Thị Thuý
- Địa chỉ cư trú: Hoàn Kiếm 3, xã Nam Hà, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng
- * Địa điểm 3 (ký hiệu: SKD3)
- Tên chủ hộ: Ông Phạm Xuân Thiều
- Địa chỉ cư trú: Hai Bà Trưng, xã Nam Hà, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng
- * Địa điểm 4 (ký hiệu: SKD4)
- Tên chủ hộ: Ông Nguyễn Quốc Bình
- Địa chỉ cư trú: Tô 7, Sóc Sơn, xã Nam Hà, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng

Bảng 3.7.3. Kết quả mô hình tích hợp các chế phẩm sinh, hoá học trên cây cà phê giai đoạn cuối kinh doanh

Địa điểm thực hiện	Công thức	Diễn biến sâu bệnh hại		Năng suất		Hiệu quả kinh tế	
		Tỉ lệ cây bị rệp sáp giảm sau một vụ (%)	Tỉ lệ cây bị thán thư giảm sau một vụ (%)	Tăng so với ĐC1 (%)	Tăng so với ĐC1 (%)	Tăng so với ĐC1 (đồng)	Tăng so với ĐC1 (đồng)
SKD1	MH	3,6	17,67	31,6	28,8	40.915.000	37.730.000
	ĐC1	3,01	17,34				
	ĐC2	2,78	16,67				
SKD2	MH	22,96	18	28,4	27,6	24.615.000	31.620.000
	ĐC1	22,38	16,01				
	ĐC2	20,39	15,33				
SKD3	MH	0,9	10,67	36,1	37,3	42.070.000	43.270.000
	ĐC1	0,61	12				
	ĐC2	0,14	11,33				
SKD4	MH	25,59	12,73	39,5	58,0	17.875.000	32.290.000
	ĐC1	21,21	12				
	ĐC2	20,54	12				

Ghi chú: MH: mô hình tích hợp; ĐC1: theo quy trình của Bộ NN và PTNT; ĐC2: phương thức canh tác của nông dân

Mô hình thí nghiệm (TN) trên diện tích 8,5 ha sử dụng quy trình tích hợp đã thiết lập tại mục 7.5. (bảng 3.7.3). Mô hình đối chứng (ĐC1) trên diện tích 1 ha: bón phân và chăm sóc theo quy trình của ngành nông nghiệp 10TCN 478-2001, quyết định ban hành số 2085/QĐ-BNN-TT ngày 31/5/2016 và cẩm nang khuyến nông của sở nông nghiệp và phát triển nông thôn tỉnh Lâm Đồng. Mô hình tham khảo canh tác của nông dân (ĐC2) trên diện tích 1 ha, theo canh tác đại trà của các hộ nông dân.

Thời gian: Từ 1/2019 đến 10/2019.

3.8.4. Xây dựng mô hình trình diễn cho cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh

(1). Quy mô: 10 ha.

(2). Mô hình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học bao gồm: chế phẩm vi sinh đa chức năng cho cây cà phê HOTIEU HTD-03, phân cải tạo đất POLYFA TN3 và thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 thay thế và giảm lượng phân bón (25% - 35%) và thuốc trừ BVTV hóa học (30% - 50%) trong canh tác hồ tiêu giai đoạn kinh doanh ở Tây Nguyên. Mô hình sử dụng quy trình kỹ thuật mô tả ở mục 7.6.3.

(3). Yêu cầu mô hình ổn định, cây trồng sinh trưởng phát triển tốt, năng suất thu hoạch đảm bảo, chất lượng nông sản đạt vệ sinh an toàn thực phẩm theo quy định hiện hành.

Mô hình thử nghiệm trên cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh được thực hiện tại các huyện ở tỉnh Lâm Đồng với tổng diện tích là 10 ha. Địa điểm cụ thể như sau:

* *Địa điểm 1: kí hiệu KD1*

- Tên chủ hộ: Ông Trần Nhật Tân

- Địa chỉ cư trú: Thôn Tầm Xá, Xã Đông Thanh, Lâm Hà, Lâm Đồng

* *Địa điểm 2: kí hiệu KD3*

- Tên chủ hộ: Ông Bùi Ngọc Hoàng

- Địa chỉ cư trú: Thôn Hai Bà Trưng, xã Nam Hà, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng

* *Địa điểm 3: kí hiệu KD2*

- Tên chủ hộ: Bà Trịnh Thị Duyên

- Địa chỉ cư trú: Thôn 3, xã Mê Linh, Lâm Hà, Lâm Đồng

* *Địa điểm 4: kí hiệu KD4*

- Tên chủ hộ: Ông Trần Văn Chiêu

- Địa chỉ cư trú: Thôn Hai Bà Trưng, xã Nam Hà, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng.

Mô hình thí nghiệm (TN) trên diện tích 8 ha sử dụng quy trình tích hợp đã thiết lập tại mục 7.6. (bảng 3.7.4). Mô hình đối chứng (ĐC1) trên diện tích 1 ha: Bón phân và chăm sóc theo quy trình của ngành nông nghiệp 10TCN 478-2001, quyết định ban hành số 2085/QĐ-BNN-TT ngày 31/5/2016 và cẩm nang khuyến nông của sở nông nghiệp và phát triển nông thôn tỉnh Lâm Đồng. Mô hình tham khảo canh tác của nông dân (ĐC2) trên diện tích 1 ha, theo canh tác đại trà của các hộ nông dân.

Thời gian: Từ 3/2019 đến 1/2020.

Bảng 3.7.4. Kết quả mô hình tích hợp các chế phẩm sinh, hoá học trên cây hồ tiêu kinh doanh

	Diễn biến sâu bệnh hại	Năng suất	Hiệu quả kinh tế
--	-------------------------------	------------------	-------------------------

Địa điểm thực hiện	Công thức	Tỉ lệ cây bị bệnh chết nhanh giảm sau 1 vụ (%)	Tỉ lệ cây đốm lá giảm sau 1 vụ (%)	Tăng so với ĐC1 (%)	Tăng so với ĐC1 (%)	Tăng so với ĐC1 (đồng)	Tăng so với ĐC1 (đồng)
HT1	MH	0,28	31,27	8,3	4,8	11.270.000	31.615.000
	ĐC1	0,08	25,86				
	ĐC2	0,03	25,56				
HT2	MH	0,18	37,37	16,1	15,5	13.050.000	31.255.000
	ĐC1	-0,08	36,89				
	ĐC2	-0,03	35				
HT3	MH	0,36	10,49	9,6	15,5	31.785.000	51.325.000
	ĐC1	-0,02	10,47				
	ĐC2	-0,04	10,66				
HT4	MH	0,09	13,46	5,6	5,3	10.520.000	30.350.000
	ĐC1	-0,01	12				
	ĐC2	0,01	12,67				

Ghi chú: MH: mô hình tích hợp; ĐC1: theo quy trình của Bộ NN và PTNT; ĐC2: phương thức canh tác của nông dân

3.8.5. Đánh giá hiệu quả mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên

Sau 1 năm thực hiện các mô hình trình diễn áp dụng quy trình tích hợp các chế phẩm sinh hoá học áp dụng cho cây cà phê (giai đoạn kiến thiết, kinh doanh và cuối kinh doanh) và hồ tiêu kinh doanh, kết quả cho thấy:

3.8.5.1. Hiệu quả cải thiện chất lượng đất trồng cà phê và hồ tiêu

- Cải thiện độ chua của đất: trước thí nghiệm các vườn thực hiện mô hình (kể cả mô hình thí nghiệm và đối chứng) có giá trị pH còn thấp. Sau thực hiện mô hình, tất cả các điểm thí nghiệm đều có giá trị pH cao hơn so với ban đầu, ở ngưỡng pH này đã thích hợp với sự phát triển của cà phê và hồ tiêu. Kết quả thí nghiệm cho thấy độ chua tiềm tàng của đất cũng đã được cải thiện đáng kể, giúp cho cà phê, hồ tiêu phát triển tốt hơn đồng thời giúp cho hoạt động của các VSV trong đất được cải thiện, giảm và hạn chế quá trình ferralit hóa trong đất.

- Cải thiện các chỉ tiêu về vật lý của đất:

Giá trị EC tăng, khả năng giữ ẩm nước của đất, có hàm lượng mùn tổng số, acid humic tăng vào thời điểm sau 1 năm áp dụng mô hình thí nghiệm. Ở các mô hình thí nghiệm hàm lượng mùn tổng số, acid humic tăng nhanh vào thời điểm sau áp dụng cao hơn nhiều sau áp dụng. Tỉ lệ

H/F của tất cả các mô hình sau thí nghiệm đều cao hơn trước thí nghiệm. Kết quả này chứng minh rằng, sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học, tăng cường bón phân hữu cơ, bổ sung VSV có lợi trong đất sẽ giúp quá trình chuyển hóa các chất hữu cơ trong đất thành mùn tốt hơn, các khoáng chất được giải phóng từ từ trong phân nhả chậm giúp các VSV chuyển hóa hữu cơ trong đất thành mùn humic tốt hơn việc sử dụng phân hóa học hòa tan nhanh.

- Cải thiện khả năng chuyển hóa N, P, K và trung lượng trong đất: ở các mô hình thí nghiệm có hàm lượng N, P, K dễ tiêu trong đất cao hơn rất nhiều so với đối chứng. Điều này thể hiện tác dụng của việc sử dụng phân NPK nhả chậm thay thế phân hoá học thông thường và việc bổ sung các VSV có tác dụng phân giải lân, cố định đạm đã phát huy tác dụng trên đồng ruộng. Hàm lượng K, Mg và SO_4^{2-} đều gia tăng sau một thời gian áp dụng quy trình. Hàm lượng Mg và SO_4^{2-} trao đổi đều tăng.

3.8.5.2. Hiệu quả nâng cao số lượng các VSV có ích trong đất trồng cà phê và hồ tiêu

- Tăng mật độ VSV có lợi.

Việc bổ sung các chế phẩm vi sinh (chế phẩm vi sinh xử lý phế thải đồng ruộng, CAFE HTD-01, HOTIEU HTD-03, POLYFA TN3) đã bổ sung cho đất hệ VSV có ích như VSV cố định đạm, VSV phân giải lân và các VSV sinh chất kích thích sinh trưởng cũng như VSV đối kháng với bệnh hại cà phê. Kết quả đánh giá sự biến động mật độ trước và sau thí nghiệm của 2 nhóm nấm *Aspergillus* và VK tổng số thuộc các chi *Bacillus*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Azospirillum* (nhóm các VK có khả năng phân giải lân, cố định đạm...) cho thấy mật độ vi sinh có lợi trong đất có chiều hướng tăng ở các mô hình thí nghiệm.

- Giảm mật độ VSV gây bệnh.

* Trong đất trồng cà phê VSV gây bệnh phổ biến với 3 nhóm là *Collectrochitrum* sp. gây bệnh thán thư, *Hemileia* sp. gây bệnh gỉ sắt và *Rhizoctonia* sp. gây bệnh thối, lở cổ rễ. Ở các mô hình thí nghiệm có mật độ bào tử nấm gây bệnh sau áp dụng thấp hơn so với trước áp dụng. Trong lúc đó mật độ bào tử các loại nấm này ở đối chứng cao hơn trước áp dụng. Điều này có thể là do khi áp dụng các giải pháp tổng hợp để chăm sóc cà phê đã bổ sung các VSV có lợi có tiềm năng trong việc chuyển hóa chất hữu cơ và đối kháng với một số nấm bệnh gây hại trong đất. Khi mật độ VSV có lợi tăng lên sẽ ức chế được các loại nấm gây hại trong đất. Vì vậy mà mật độ nấm gây bệnh trong đất ở các mô hình giảm, nhưng ở công thức đối chứng tăng.

* Trong đất trồng hồ tiêu kinh doanh tồn tại 3 loại nấm gây bệnh là *Fusarium*, *Rhizoctonia* và *Phytophthora*. Trong đó, nấm *Phytophthora* xuất hiện với mật độ cao ở tất cả 4 địa điểm thực hiện mô hình, tiếp đến là nấm *Fusarium*, *Rhizoctonia* xuất hiện với mật độ cao ở 2 địa điểm. Sau thí nghiệm, mật độ cả 3 nấm này đều giảm so với trước thí nghiệm ở tất cả các địa điểm thí nghiệm, tuy nhiên ở các thí nghiệm đối chứng 1 và 2 thì mật độ của cả 3 nhóm nấm này đều không giảm mà còn có xu hướng tăng lên (địa điểm KD1, KD3). Kết quả này chứng tỏ rằng, mô hình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học đã bổ sung vào đất trồng các nhóm VSV đối kháng có tác dụng làm ức chế/giảm khả năng sinh trưởng của các nhóm nấm gây bệnh trên cây hồ tiêu.

Trên hồ tiêu, các bệnh gây hại do nấm gây ra đặc biệt nghiêm trọng vì nó là một trong những nguyên nhân gây bệnh vàng lá, chết nhanh, chết chậm trên hồ tiêu. Một trong những bệnh nguy hiểm nhất gây hại cho hồ tiêu là lở cổ rễ, thối rễ và tháo khớp. Đó là chính là nguyên nhân mà trong những năm gần đây diện tích canh tác hồ tiêu bị thu hẹp trên cả nước nói chung và tại vùng chuyên canh cây công nghiệp trong cả nước. Chính điều đó, sử dụng các chế phẩm VSV có tác dụng rõ rệt trong việc làm giảm mật độ VSV gây bệnh trong đất, trong đó giảm đáng kể bào tử nấm *Phytophthora* trong đất hồ tiêu. Đây là nấm gây hại nguy hiểm nhất trên hồ tiêu hiện nay.

Tuyến trùng là một trong những dịch hại nguy hiểm nhất trên hồ tiêu, làm giảm năng suất đồng thời làm gia tăng mật độ các loại nấm ký sinh gây hại. Kết quả thí nghiệm cho thấy, mật độ tuyến trùng ký sinh tổng số trong đất trồng hồ tiêu và mật độ ấu trùng nốt sần tuổi 2 trong rễ rất cao tại thời điểm trước thí nghiệm và thời điểm sau 1 năm thí nghiệm ở cả 4 địa điểm thực hiện mô hình. Tuy nhiên, sau 1 năm thí nghiệm, mật độ tuyến trùng trong đất trồng hồ tiêu và mật độ ấu trùng nốt sần tuổi 2 trong rễ có chiều hướng giảm mạnh ở mô hình ở cả 4 địa điểm thí nghiệm. Ngược lại, ở các công thức đối chứng 1 và 2 thì mật độ tuyến trùng ký sinh tổng số trong đất trồng hồ tiêu và mật độ ấu trùng nốt sần tuổi 2 trong rễ của cả 3 nhóm nấm này đều không giảm mà còn có xu hướng tăng lên. Điều này được giải thích, do trong quá trình thí nghiệm, nấm *Trichoderma* được sử dụng để bổ sung vào phân bón cho hồ tiêu nên *Trichoderma* được nhân nhanh về mặt sinh khối, có khả năng ức chế và tiêu diệt tuyến trùng, hạn chế sự nở trứng của tuyến trùng trong đất nên mật độ tuyến trùng giảm. Đặc biệt *Trichoderma hazianum* có tác dụng kiểm soát tuyến trùng nốt

sản rễ hiệu quả ở vùng nhiệt đới, đặc biệt là hạn chế được 30-90% quá trình nở trứng. Vì thế mà ấu trùng tuổi 2 trong rễ và trong đất cũng giảm đi một cách đáng kể. Đồng thời, trong quy trình sử dụng thuốc thảo mộc Anisaf -SH01 cũng có tác dụng khống chế sự sinh trưởng và phát triển của tuyến trùng gây hại.

3.8.5.3. Hiệu quả giúp cây cà phê và hồ tiêu sinh trưởng phát triển tốt

- Cây cà phê ở các thời kỳ kiến thiết, kinh doanh và cuối kinh doanh đều sinh trưởng phát triển tốt. Số cặp lá mới mọc/cành trung bình tăng lên ở các mô hình thí nghiệm. Chiều dài cành tăng trưởng ở mô hình thí nghiệm cao hơn rất nhiều so với đối chứng mô hình ở tất cả các địa điểm thực hiện mô hình.

- Ở hồ tiêu, kết quả đánh giá các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất hồ tiêu cho thấy ở mô hình thí nghiệm có sự vượt trội hơn hẳn so với đối chứng về số gié/cành, số quả/gié, số cành mang quả và số năng suất lý thuyết.

8.5.4. Hiệu quả đảm bảo các yếu tố cấu thành năng suất cà phê và hồ tiêu

* Đối với cà phê kiến thiết:

Ở giai đoạn kiến thiết việc tăng sinh khối, tăng số lá, chiều dài cành có vai trò quyết định so với chỉ tiêu về năng suất. Ở 2 địa điểm thí nghiệm KT1 và KT3 có số cành mang quả và số chùm quả trên mỗi cành ở cùng địa điểm thí nghiệm không có sự khác biệt về mặt thống kê nhưng số quả trên mỗi cành có sự khác biệt. Số quả trên mỗi chùm ở công thức mô hình cao hơn so với đối chứng mô hình ở cùng địa điểm thực hiện. Do cây cà phê ở giai đoạn kiến thiết nên dinh dưỡng chủ yếu dùng để nuôi cành, lá và phát triển tán lá. Do đó, một phần dinh dưỡng dùng để nuôi quả. Ở đối chứng mô hình chủ yếu sử dụng phân hóa học tan nhanh nên khi bón vào đất cây trồng sẽ hấp thu ngay, do đó sẽ chuyển hóa nhanh để phát triển tán mà không có sự dự trữ lâu dài, nên vào một thời điểm nhất định lượng dinh dưỡng hòa tan này không cung cấp đủ cho cây trồng làm cho cây trồng sẽ loại bỏ trái để tập trung dinh dưỡng nuôi cành và phát triển tán lá. Chính vì thế mà số quả trên mỗi chùm ít hơn rất nhiều so với mô hình.

Năng suất tươi ở mô hình ở địa điểm KT1 cao hơn hẳn so với hình thức canh tác của nông dân. Ở địa điểm KT4 năng suất mô hình cũng cao hơn so với đối chứng. Tỷ lệ quả tươi so với nhân ở mô hình thấp hơn hẳn so với đối chứng. Ở mô hình KT1, tỷ lệ quả

tươi/nhân thấp nhất do ở mô hình KT1 đã tiến hành thí nghiệm và thực hiện 3 năm liên tục. Do đó, kết quả thí nghiệm được đánh giá cao hơn so với đối chứng. Năng suất cà phê ở giai đoạn kiến thiết ở mô hình thí nghiệm KT1 cao hơn hẳn so với đối chứng.

Kết quả thí nghiệm đối với 2 mô hình ở độ tuổi thứ 3 (năm thứ 2 cho quả) cho thấy năng suất thu được cao, xấp xỉ gần 4 tấn nhân/ha. Đây là năng suất khá cao có thể chuyển qua thời kỳ kinh doanh cà phê và cho năng suất ổn định. Như vậy với giải pháp sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học không những tăng nhanh quá trình phát triển của cà phê mà rút ngắn thời kỳ kiến thiết, chuyển tiếp qua thời kỳ kinh doanh cà phê ổn định với thời gian ước tính khoảng 1 năm.

* Đối với cây cà phê kinh doanh và giai đoạn cuối kinh doanh:

Kết quả cho thấy số quả trên một chùm ở tất cả các mô hình thí nghiệm áp dụng công thức tích hợp có số quả/chùm cao hơn hẳn so với đối chứng của mô hình đó ở địa điểm thí nghiệm. Điều này chứng tỏ rằng, việc áp dụng phân bón khác nhau có ảnh hưởng khác nhau đến số quả trên một chùm quả vào giai đoạn chín sinh lý. Ở ĐC1 áp dụng theo công thức phân bón của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn và ĐC2 áp dụng theo cách canh tác của nông dân chủ yếu sử dụng phân hóa học nên cây trồng hấp thu nhanh chóng và chuyển hóa nhanh nhưng không tích lũy trong đất. Mặt khác, nông dân áp dụng biện pháp canh tác truyền thống nếu áp dụng không đúng kỹ thuật thì dẫn đến quá trình chuyển hóa chất dinh dưỡng từ dạng dễ hấp thu đối với cây trồng sang dạng khó chuyển hóa trong đất nên cây trồng không hấp thu được. Điều này dẫn đến cây sẽ có thể thiếu một vài chất dinh dưỡng cần thiết vào những lúc cây cần chuyển hóa và có thể vì thế mà dẫn đến hiện tượng rụng quả. Kết quả đó thể hiện ở số quả trên một chùm quả ở ĐC1 và ĐC2 đều thấp hơn so với áp dụng qui trình tổng hợp các chế phẩm sinh hóa học.

Việc áp dụng các chế phẩm sinh hóa học vừa cung cấp cho cây trồng một lượng NPK phân giải chậm, từ từ chuyển hóa trong đất giúp cây có thể hấp thu dinh dưỡng khi cần thiết nên sẽ không có hiện tượng thiếu dinh dưỡng tạm thời khi bón phân hóa học thông thường. Thêm vào đó, sử dụng phân hữu cơ đã hoại mục, có bổ sung các VSV cố định đạm, phân giải lân có vai trò trong việc làm giàu đạm trong đất, tăng cường quá trình chuyển hóa các dạng phân lân không hòa tan trong đất thành dạng dễ hòa tan, đồng thời giúp duy trì và ổn định hàm lượng K trao đổi cũng như các trung và vi lượng khác giúp cây trồng có nguồn

đinh dưỡng dự trữ trong đất để sử dụng khi cần thiết. Vì thế mà cà phê hấp thu dinh dưỡng một cách cân đối, không bị thiếu dinh dưỡng trong quá trình tạo hạt và hạn chế quá trình loại thải trái (rụng trái).

Ở cà phê kinh doanh, kết quả cho thấy tỉ lệ quả tươi/nhân ở các mô hình thí nghiệm ở 4 địa điểm thực hiện mô hình khác nhau cũng thấp hơn hẳn so với ĐC1 và ĐC2 của những địa điểm đó. Điều này một lần nữa khẳng định rằng chế độ bón phân có ảnh hưởng rất lớn đến việc tăng năng suất nhân của cà phê. Kết quả tính toán năng suất nhân (lý thuyết) cũng cho thấy mô hình thí nghiệm ở địa điểm KD2 và KD3 có năng suất nhân lớn nhất đạt 29,34 và 26,88 tấn/ha. Bên cạnh đó, mô hình thí nghiệm ở địa điểm KD2 và KD3 cũng có năng suất nhân của cà phê nhân đạt 7,30 và 6,69 tấn/ha cao hơn ĐC1 và ĐC2 ở cùng địa điểm thực hiện mô hình.

Điều này chứng tỏ rằng, áp dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học có sử dụng các VSV cố định đạm, VSV phân giải lân, giảm 35% phân hóa học, tăng cường bổ sung phân bón hữu cơ đã qua ủ với hỗn hợp các VSV có lợi, kết hợp sử dụng NPK nhả chậm thay thế phân hóa học thông thường có tác dụng kích thích sự sinh trưởng của cây trồng, tăng số đốt lá mới, kéo dài cành, tăng năng suất tươi và tăng năng suất nhân cà phê đối với cây cà phê thời kỳ kinh doanh.

Ở hồ tiêu kinh doanh, kết quả đánh giá các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất hồ tiêu cho thấy ở mô hình thí nghiệm có sự vượt trội hơn hẳn so với đối chứng về số gié/cành, số quả/gié, số cành mang quả và số năng suất lý thuyết.

3.8.5.5. Hiệu quả trong trừ dịch hại cà phê và hồ tiêu theo hướng bền vững

* Đối với cây cà phê: trong năm 2019 tại ở các địa điểm thực hiện mô hình thí nghiệm và đối chứng chủ yếu xuất hiện rệp sáp, gỉ sắt và thán thư. Trong quá trình thực hiện mô hình, tình hình xử lý thuốc BVTV hóa học ở các mô hình thí nghiệm và đối chứng như sau: ở mô hình thí nghiệm không phun thuốc BVTV hóa học, trong khi đó ở mô hình đối chứng đã phun 4 lần thuốc BVTV thực vật hóa học để phòng trừ bệnh gỉ sắt, thán thư, tuyến trùng và rệp sáp. Như vậy, mô hình thí nghiệm đã giảm 100% thuốc trừ sâu hóa học so với đối chứng.

Các mô hình ở các địa điểm thí nghiệm khác nhau có mức độ cây bị rệp sáp khác nhau. Tỉ lệ rệp sáp và cấp bệnh hại của rệp gây hại cà phê ở các mô hình thí nghiệm giảm nhanh sau 30 ngày xử lý thuốc. Kết quả so sánh đánh giá tỉ lệ cây bị rệp sáp và cấp bệnh hại do rệp sáp

gây ra khi sử dụng thuốc trừ rệp Anisaf-SH1 cho thấy có hiệu quả cao hơn so với biện pháp sử dụng thuốc hóa học trong mô hình đối chứng.

Kết quả theo dõi bệnh thán thư cho thấy, việc áp dụng các giải pháp phòng trừ bệnh thán thư không có sự khác nhau rõ rệt giữa các công thức mô hình và đối chứng mô hình. Chứng tỏ không có sự khác biệt rõ rệt giữa hiệu lực của thuốc hóa học trong phòng trừ bệnh ở mô hình đối chứng so với việc chỉ sử dụng thuốc sinh học trong phòng trừ bệnh ở mô hình thí nghiệm không có sự khác biệt.

* Đối với hồ tiêu:

Trong năm 2019 tại ở các địa điểm thực hiện mô hình thí nghiệm và đối chứng chủ yếu xuất hiện bệnh đốm lá và bệnh chết nhanh. Trong quá trình thực hiện mô hình, tình hình xử lý thuốc BVTV hóa học ở các mô hình thí nghiệm và đối chứng như sau: ở mô hình thí nghiệm phun 2 lần thuốc BVTV hóa học để trừ nấm để phòng trừ bệnh đốm lá, trong khi đó ở mô hình đối chứng đã phun 4 lần thuốc BVTV hóa học để phòng trừ bệnh đốm lá và 2 lần sử dụng thuốc hóa học phòng trừ tuyến trùng và 2 lần phun thuốc diệt trừ rệp sáp. Như vậy, mô hình thí nghiệm đã giảm 50% thuốc BVTV hóa học phòng trừ nấm, giảm 100% thuốc bảo vệ hóa học trong phòng trừ tuyến trùng hồ tiêu so với đối chứng.

Ngoài ra, các vườn hồ tiêu mô hình và đối chứng có xuất hiện rệp sáp hại hồ tiêu vào khoảng tháng 4. Tuy nhiên, tỉ lệ cây bị rệp sáp không đáng kể (chỉ khoảng 0,05%). Ở mô hình sử dụng ANISAF SH01 để phun phòng trừ rệp sáp, còn ở các đối chứng đã sử dụng 2 lần thuốc BVTV hóa học trừ rệp vào đầu mùa mưa nên tỉ lệ cây bị rệp sáp rất thấp và không đáng kể. Vì vậy, trong kết quả báo cáo, chỉ tiêu về rệp sáp gây hại không đưa vào kết quả nghiên cứu trên hồ tiêu. Như vậy, mô hình thí nghiệm đã giảm 100% thuốc BVTV hóa học phòng trừ rệp sáp so với đối chứng.

Bệnh khô cành, chết nhanh hồ tiêu

Bệnh chết nhanh là một trong những bệnh hại nguy hiểm nhất trên hồ tiêu. Vào cuối mùa mưa, đầu mùa khô triệu chứng bệnh chết nhanh biểu hiện rất rõ rệt. Trong trường hợp nhẹ, cây hồ tiêu chỉ chết một cành, còn nếu nặng thì cây sẽ chết toàn bộ. Biểu hiện bệnh chết nhanh ở bộ phận trên thân cây, tuy nhiên nguyên nhân gây bệnh lại xuất phát từ gốc tiêu. Những cây bị bệnh thường các mắt khớp sát mặt đất bị đứt rời (tháo khớp). Ở vị trí đó, thân cây tiêu bị cắt đứt hoàn toàn mạch dẫn nên nước và muối khoáng không thể vận

chuyển lên thân, vì thế cây tiêu bị chết một cách nhanh chóng. Ở các mô hình, chủ yếu sử dụng các VSV đối kháng, trong đó có 8 loài *Trichoderma*, *Pseudomonas* và *Bacillus subtilis* có tác dụng ức chế và hạn chế sự phát triển của nấm *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizoctonia* và tuyến trùng gây hại vùng rễ. Điều đó làm giảm tỉ lệ cây bị chết nhanh trên hồ tiêu.

Tỉ lệ và cấp hại của bệnh đốm lá trên hồ tiêu

Kết quả theo dõi bệnh đốm lá cho thấy, việc áp dụng các giải pháp phòng trừ bệnh đốm lá không có sự khác nhau rõ rệt giữa các công thức mô hình và đối chứng mô hình. Ở mô hình sử dụng lượng thuốc hóa học phòng trừ nấm chỉ bằng $\frac{1}{2}$ so với đối chứng theo Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn và đối chứng của nông dân. Tuy nhiên, kết quả thí nghiệm cho thấy không có sự khác biệt về tỉ lệ cây bị bệnh, cấp hại của bệnh đốm lá trên hồ tiêu. Điều này chứng tỏ, không có sự khác biệt rõ rệt giữa hiệu lực của thuốc hóa học trong phòng trừ bệnh so với việc kết hợp sử dụng thuốc hóa học và sinh học và giảm lượng thuốc hóa học trong phòng trừ bệnh so với việc sử dụng hoàn toàn thuốc hóa học như phương pháp đối chứng của Bộ NN-PTNT và đối chứng của nông dân.

8.5.6. Hạt cà phê và hồ tiêu canh tác theo hướng bền vững đạt chất lượng tốt, đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm.

** Đối với cà phê:*

Đánh giá chất lượng mẫu nông sản cà phê của các mô hình nghiên cứu, vào thời kỳ quả cà phê chín. Tiến hành thu mẫu quả cà phê tươi trên cả 3 mô hình nghiên cứu, mỗi mô hình thu 10 kg quả tươi và mẫu được thu theo các qui định chung về thu mẫu cà phê sống. Đánh giá chỉ tiêu về hàm lượng tro hàm lượng cát tan được thực hiện tại phòng thí nghiệm công nghệ sau thu hoạch Trường Đại học Đà Lạt, đánh giá về hàm lượng kim loại nặng, hàm lượng cafein, chất BVTV được gửi mẫu tại Viện nghiên cứu Hạt nhân Đà Lạt. Các kết quả cho thấy, hàm lượng tro tổng số thấp hơn ngưỡng tối đa cho phép theo tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN 5250: 2015) về quy định hàm lượng tro tổng số trong cà phê mịn không lớn hơn 5%. Như vậy trong các mẫu phân tích đều cho thấy hàm lượng tro không tổng số không vượt ngưỡng cho phép theo tiêu chuẩn Việt Nam. Cũng theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 5251:2015 quy định, hàm lượng trong không tan trong HCl là không được vượt quá 2%. Kết quả phân tích mẫu đối chứng và mô hình có hàm lượng tro không

tan trong HCl không lớn hơn 0,2%, nằm ở khoảng từ 0,008 – 0,031% thấp hơn rất nhiều so với ngưỡng tối đa cho phép.

Kết quả phân tích cũng cho thấy, cả mô hình và đối chứng đều có hàm lượng các chất tan trong nước cao hơn 25%, cao hơn ngưỡng qui định của tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 5251:2015 về chất lượng cà phê bột. Hàm lượng chất tan trong nước và hàm lượng cafein cũng là một chỉ tiêu đánh giá chất lượng quan trọng của cà phê. Chất hòa tan trong nước càng cao thì khả năng hấp thu và chuyển hóa càng tốt. Ngoài ra, hàm lượng cafein cũng là một chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng cà phê. Kết quả phân tích hàm lượng cafein trong mẫu phân tích của mô hình đều cao hơn 1%, phù hợp với tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 5251:2015 qui định. Nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học trên hạt cà phê cũng cho biết: hàm lượng caffeine trong cà phê chiếm từ 1-3%, phụ thuộc vào chủng loại cà phê, điều kiện khí hậu, điều kiện canh tác và hàm lượng caffeine ở cà phê chèn ít hơn cà phê vối. Hàm lượng kim loại nặng trong hạt cà phê ở các mô hình đều không vượt ngưỡng tối đa cho phép. Cả 2 mô hình (KT1 và KT3) đều không phát hiện được hàm lượng Pb trong hạt. Hàm lượng As trong hạt nằm vào khoảng là 0,026 ở mô hình KT1 và 0,027 ở mô hình KT3 thấp hơn rất nhiều so với ngưỡng cho phép của Bộ Y tế với giới hạn tối đa cho phép là 1,0 mg/kg (Thông tư 02/2011/TT-BYT).

Kết quả phân tích 12 gốc thuốc BVTV trong hạt cà phê cho thấy có 11 hoạt chất không phát hiện thấy trong mẫu hạt. Chỉ riêng đối với gốc Chlorpyrifos được phát hiện ở cả 2 mô hình thí nghiệm. Nồng độ của hoạt chất này trong hạt cà phê ở KT1 và KT3 là 0,006 mg/kg và 0,008 mg/kg thấp hơn rất nhiều so với qui định của bộ Y tế là 0,5 mg/kg.

Một số nhóm VSV có mặt trong mẫu nông sản cà phê sẽ gây bệnh cho con người như: *Coliforms*, *Escherichia coli*, *Samonella*, tổng số vi nấm (nấm nem, nấm mốc) vì vậy đây cũng là chỉ tiêu đánh giá tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm. Mẫu cà phê ở mô hình thí nghiệm không phát hiện thấy *Coliforms*, *Escherichia coli*, *Samonella*, còn nấm men và nấm mốc đạt tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm. Kết quả phân tích các chỉ tiêu chất lượng VSV gây hại của cà phê ở trên cho thấy tất cả các mẫu cà phê thu hoạch tại vườn mô hình đều đáp ứng được các chỉ tiêu về an toàn vệ sinh thực phẩm.

Các kết quả phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng cà phê, kim loại nặng, 12 hoạt chất thuốc BVTV trong hạt cà phê đều cho thấy hàm lượng các chất này thấp hơn rất nhiều so với qui định giới hạn tối đa cho phép trong cà phê của Bộ Y tế. Số lượng một số nhóm VSV gây bệnh trong mẫu cà phê đều đáp ứng được các chỉ tiêu về an toàn vệ sinh thực phẩm.

Chúng tôi, sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học làm giảm 35% phân hóa học tan nhanh và giảm sử dụng thuốc BVTV hóa học, từ đó không còn dư lượng thuốc BVTV và kim loại nặng trong hạt cà phê. Vì vậy, hạt cà phê đạt tiêu chuẩn an toàn để lưu hành trên thị trường.

* Đối với hồ tiêu:

Kết quả phân tích các chỉ tiêu chất lượng của hồ tiêu ở trên cho thấy tất cả các mẫu hồ tiêu thu hoạch tại vườn mô hình đều đáp ứng được các chỉ tiêu về an toàn vệ sinh thực phẩm.

Đánh giá chất lượng mẫu nông sản hồ tiêu của các mô hình nghiên cứu, vào thời kỳ quả hồ tiêu chín. Tiến hành thu mẫu quả hồ tiêu tươi trên cả 4 mô hình nghiên cứu, mỗi mô hình thu 10 kg quả tươi và mẫu được thu theo các qui định chung về thu mẫu hồ tiêu sống. Theo TCVN 036:2008 quy định hàm lượng tro tổng số trong hạt hồ tiêu không lớn hơn 6%. Như vậy trong các mẫu phân tích đều cho thấy hàm lượng tro tổng số không vượt ngưỡng cho phép theo tiêu chuẩn Việt Nam. Theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 036:2008 quy định, hàm lượng tro không tan trong HCl không được vượt quá 1,2% mà trong các mẫu phân tích kể cả đối chứng và mô hình đều có hàm lượng tro không tan trong HCl không lớn hơn 1%, còn thấp hơn rất nhiều so với ngưỡng tối đa cho phép.

Một số nhóm VSV có mặt trong mẫu nông sản hồ tiêu sẽ gây bệnh cho con người như: *Coliforms*, *Escherichia coli*, *Samonella*, tổng số vi nấm (nấm nem, nấm mốc) vì vậy đây cũng là chỉ tiêu đánh giá tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm. Kết quả phân tích các chỉ tiêu này tại Viện Công nghệ Sinh học. Mẫu hồ tiêu ở mô hình thí nghiệm không phát hiện thấy *Coliforms*, *Escherichia coli*, *Samonella*, còn nấm men và nấm mốc đạt tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm.

Kết quả phân tích hàm lượng kim loại nặng trong hạt hồ tiêu cũng cho thấy, các mô hình đều có hàm lượng kim loại nặng không vượt ngưỡng cho phép. Tất cả 4 mô hình đều không phát hiện được hàm lượng Pb trong hạt (đều thấp hơn 0,012 mg/kg so với tiêu chuẩn là 2,0 mg/kg). Hàm lượng As trong hạt nằm vào khoảng 0,050-0,058 thấp hơn rất nhiều so với ngưỡng cho phép của Bộ Y tế với giới hạn tối đa cho phép là 1,0 mg/kg (*Thông tư 02/2011/TT-BYT*).

Kết quả phân tích về dư lượng thuốc BVTV cho thấy 4 mô hình thí nghiệm đều không phát hiện được dư lượng thuốc BVTV các gốc phổ biến theo qui định của Bộ y tế. Chỉ riêng đối với gốc Chlorpyrifos được phát hiện. Tuy nhiên, nồng độ phát hiện các hoạt chất này đều thấp hơn rất nhiều so với qui định của Bộ Y tế. Kết quả phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng hồ tiêu, kim loại nặng, hàm lượng thuốc BVTV trong hạt hồ tiêu đều cho

thấy hàm lượng các chất này đều thấp hơn rất nhiều so với qui định giới hạn tối đa cho phép trong hồ tiêu của Bộ Y tế.

Như vậy, sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học có tác dụng làm giảm sử dụng phân bón hóa học, thuốc BVTV hóa học, từ đó không còn dư lượng thuốc BVTV và kim loại nặng trong hạt hồ tiêu. Do đó, hạt hồ tiêu đạt tiêu chuẩn an toàn vệ sinh thực phẩm.

3.8.5.7. Hiệu quả góp phần tăng tính bền vững môi trường

Kết quả phân tích cho thấy pH nước của các mô hình thí nghiệm, pH đất đều nằm trong ngưỡng qui định về chất lượng nước tưới và thủy lợi theo qui định của Bộ tài nguyên và môi trường.

Kết quả phân tích kim loại nặng trong nước mặt cũng cho thấy hàm lượng Pb và As đều thấp hơn ngưỡng qui định về kim loại nặng cho phép trong nước tưới và thủy lợi (QCVN 08-MT:2015/BTN-MT). Đối với Pb và As, quy chuẩn VN qui định giới hạn tối đa cho phép là 0,05 mg/l. trong lúc đó, kết quả phân tích ở các mẫu là không phát hiện cho đến 0,004 thấp hơn rất nhiều so với quy chuẩn qui định. Vì vậy, các mẫu nước tưới hoàn toàn đạt yêu cầu là nguồn nước tưới cho cà phê và hồ tiêu để đạt tiêu chuẩn sản xuất an toàn.

Kết quả phân tích về kim loại nặng trong đất cho thấy, hàm lượng Pb nằm vào khoảng thấp hơn rất nhiều so với qui chuẩn về chất lượng đất do Bộ tài nguyên và Môi trường qui định với mức là 70mg/kg (QCVN:03-MT:2015/BTN-MT). Hàm lượng As trong đất theo QCVN:03-MT:2015/BTN-MT qui định là không được vượt quá 15mg/kg đất khô. Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng As trong đất trồng ở các mô hình đều thấp hơn rất nhiều so với ngưỡng qui định.

3.8.5.8. Hiệu quả kinh tế vẫn được đảm bảo khi canh tác theo hướng bền vững

Để đánh giá hiệu quả kinh tế, dựa vào số liệu năng suất nhân cà phê lý thuyết, công lao động, chi phí phân bón, thuốc BVTV áp dụng thực tế tại các mô hình để đánh giá. Kết quả cho thấy:

- * Đối với cây cà phê kiến thiết:
- Hiệu quả kinh tế của việc áp dụng mô hình tăng hơn so với áp dụng theo qui trình của Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn là 19.596.750 ở mô hình KT1 và mô hình KT3. So với hình thức canh tác truyền thống của nông dân thì áp dụng mô hình tích hợp hiệu quả cao hơn rất nhiều, cụ thể việc áp dụng mô hình tích hợp có hiệu quả cao hơn đôi chúng 25.736.750 địa điểm thực hiện KT1 và 27.391,750 ở địa điểm KT3. Như vậy, việc

áp dụng mô hình tích hợp có tác dụng làm tăng hiệu quả kinh tế, tăng lãi ròng đối với người sản xuất cà phê ở giai đoạn kiến thiết.

- * Đối với cây cà phê kinh doanh:

Kết quả đánh giá hiệu quả kinh tế của mô hình cho thấy, mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho thấy hiệu quả kinh tế cao hơn hẳn so với đối chứng. Lãi suất ở mô hình thí nghiệm dao động từ 130.050.000 đồng/ha - 178.285.000 đồng/ha, trong khi mô hình đối chứng chỉ đạt lãi suất dao động từ 80.080.000 đồng/ha - 99.245.000 đồng/ha. Kết quả đánh giá hiệu quả kinh tế của mô hình và so sánh với quy trình áp dụng các giải pháp sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học có tác dụng làm giảm chi phí phân bón hóa học, giảm sử dụng thuốc BVTV hóa học nhưng ngược lại, tăng chi phí cho phân hữu cơ, tăng số tầng số công sử dụng lao động và thu hoạch sản phẩm. Kết quả đánh giá cũng cho thấy lãi ròng khi áp dụng mô hình cao hơn hẳn so với đối chứng. Giá trị gia tăng giữa mô hình thí nghiệm và đối chứng 1 (theo quy trình BNN) dao động từ 35.513.000 đồng/ha - 94.393.000 đồng/ha và từ 30.805.000 đồng đến 79.935.000 đồng/ha so với đối chứng 2 (theo quy trình phổ biến của nông dân) trong toàn bộ thời gian thực hiện mô hình. Trong đó mô hình thực hiện tại địa điểm ông Đoàn Thế Hiệu (Địa chỉ cư trú: Thôn An Bình, xã Liên Hiệp, Đức Trọng, Lâm Đồng) cho hiệu quả kinh tế cao nhất đạt 98.250.000 đồng so với ĐC1 và 79.935.000 đồng so với ĐC2, đây cũng là địa điểm đã áp dụng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học từ năm 2018, áp dụng trước 1 năm so với các địa điểm còn lại. Điều này chứng tỏ, quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học trên đối tượng cây cà phê giai đoạn kinh doanh đạt hiệu quả ổn định, bền vững.

- * Cây cà phê cuối kinh doanh:

Kết quả đánh giá hiệu quả kinh tế của mô hình cho thấy, mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho thấy hiệu quả kinh tế cao hơn hẳn so với đối chứng. Lãi suất ở mô hình thí nghiệm dao động từ 51.410.000 đồng/ha - 109.250.000 đồng/ha, trong khi mô hình đối chứng chỉ đạt lãi suất dao động từ 54.035.000 đồng/ha - 76.095.000 đồng/ha. Giá trị gia tăng giữa mô hình thí nghiệm và đối chứng 1 (theo quy trình Bộ NN-PTNT) dao động từ 24.615.000 đồng/ha - 42.070.000 đồng/ha và đối chứng 2 (theo quy trình phổ biến của nông dân) dao động từ 31.620.000 đồng/ha - 43.270.000 đồng/ha trong toàn bộ thời gian thực hiện mô hình. Đặc biệt, mô hình thực hiện tại địa điểm vườn ông Phạm Xuân Thiệu (Địa chỉ cư trú: Hai Bà Trưng, Nam Hà, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng) cho hiệu quả kinh tế

cao nhất và đây cũng là địa điểm đã áp dụng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học từ năm 2018, áp dụng trước 1 năm so với các địa điểm còn lại. Điều này chứng tỏ, quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học trên đối tượng cây cà phê cuối giai đoạn kinh doanh đạt hiệu quả ổn định, bền vững.

* Cây hồ tiêu kinh doanh:

Kết quả đánh giá hiệu quả kinh tế của mô hình cho thấy, mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học cho thấy hiệu quả kinh tế cao hơn hẳn so với đối chứng. Lãi suất ở mô hình thí nghiệm dao động từ 66.285.000 đồng/ha - 141.295.000 đồng/ha, trong khi mô hình đối chứng chỉ đạt lãi suất dao động từ 29.030.000 đồng/ha - 109.510.000 đồng/ha. Giá trị gia tăng giữa mô hình thí nghiệm và đối chứng 1 (theo quy trình BNN) dao động từ 10.520.000 đồng/ha - 31.785.000 đồng/ha và từ 30.350.000 đồng đến 51.325.000 đồng/ha so với đối chứng 2 (theo quy trình phổ biến của nông dân) trong toàn bộ thời gian thực hiện mô hình. Trong đó mô hình thực hiện tại địa điểm Bà Trịnh Thị Duyên (Địa chỉ cư trú: Thôn 3, xã Mê Linh, Lâm Hà, Lâm Đồng) cho hiệu quả kinh tế cao nhất đạt 31.785.000 đồng so với ĐC1 và 51.325.000 đồng so với ĐC2, đây cũng là địa điểm đã áp dụng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học từ năm 2018, áp dụng trước 1 năm so với các địa điểm còn lại. Điều này chứng tỏ, quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hóa học trên đối tượng cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh đạt hiệu quả ổn định, bền vững.

Các kết quả thu được cho thấy: các mô hình áp dụng trên cây cà phê (giai đoạn kiến thiết, kinh doanh và cuối kinh doanh) và cây hồ tiêu cho sinh trưởng phát triển tốt, đã cải tạo tính chất vật lý của đất (tăng hàm lượng mùn, tỷ lệ H/F dần bằng 1, tăng khả năng giữ ẩm cho đất), cải tạo tính chất hóa học của đất (tăng hàm lượng chất dinh dưỡng dễ tiêu, tăng hàm lượng mùn, tỷ lệ H/F dần bằng 1...), cải tạo tính chất sinh học của đất (tăng mật độ VSV phân giải lân, cố định đạm và các chủng VSV đối kháng nguồn bệnh), giảm mật độ VSV gây bệnh, tăng năng suất cây trồng so với đối chứng. Quy trình đạt hiệu quả ổn định và dễ thực hiện. Chất lượng hạt cà phê và hồ tiêu đạt vệ sinh ATTP về VSV, thuốc BVTV và kim loại nặng do Bộ Y tế quy định.

Chương 4. TÓM TẮT VÀ ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong thời gian thực hiện đề tài từ 12/2016 - tháng 12/2020, đề tài đã thu được các kết quả sau:

4.1. KẾT QUẢ KHOA HỌC

4.1.1. Sản phẩm Dạng I:

TT	Tên sản phẩm	Đơn vị tính	Số lượng		Ghi chú
			Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
I.1	Chế phẩm CAFE-HTD01	Tấn	10	10	Sản phẩm đã được cấp giấy chứng nhận hợp qui
I.2	Chế phẩm HOTIEU-HTD03	Tấn	7	7	Sản phẩm đã được cấp giấy chứng nhận hợp qui
I.3	Bộ chủng vi sinh vật nội sinh phù hợp kích thích sinh trưởng trên cây cà phê tái canh	Chủng	3-5 chủng (gồm vi khuẩn, xạ khuẩn và nấm)	5 chủng (gồm 2 chủng vi khuẩn và 3 chủng xạ khuẩn)	Các chủng vi sinh vật đượ lưu trữ tại Trung tâm Giống vi sinh vật – Viện Công nghệ sinh học- Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
I.4	Chế phẩm vi sinh vật nội sinh HTD-CNSH-CF	kg	50	50	

4.1.2. Sản phẩm Dạng II:

TT	Tên sản phẩm	Đơn vị tính	Số lượng		Ghi chú
			Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
II.1	04 Quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm các chế phẩm sinh hóa học nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên	Quy trình	04	04	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 20/10/2010

TT	Tên sản phẩm	Đơn vị tính	Số lượng		Ghi chú
			Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
II.2	04 mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm các chế phẩm sinh, hóa học nhằm phát triển hiệu quả và bền vững cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên	Mô hình	04	04	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 20/10/2010
II.3	02 quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh CAFE-HTD01; HOTIEU-HTD03	Quy trình	02	02	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 20/10/2010
II.4	01 quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh cải tạo đất POLYFA-TN3 dùng cho cây cà phê và hồ tiêu	Quy trình	01	01	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 20/10/2010
II.5	01 quy trình sản xuất phân bón nhả chậm cho cây cà phê	Quy trình	01	01	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 20/10/2010
II.6	01 quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh nội sinh HTD-CNSH-CF	Quy trình	01	01	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 20/10/2020
II.7	01 quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc Anisaf SH-01 cho cây cà phê	Quy trình	01	01	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 20/10/2020
II.8	01 quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc Anisaf SH-01 cho cây hồ tiêu	Quy trình	01	01	Quy trình đã được nghiệm thu ngày 20/10/2020

4.1.3 Sản phẩm Dạng III:

TT	Tên sản phẩm	Đơn vị tính	Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	Ghi chú
III.1	Bài báo quốc tế	Bài	01	01	Tên bài báo: Occurrence of endophytic acteria in Vietnamese Robusta coffee roots and their effects on plant parasitic nematodes, Đăng

TT	Tên sản phẩm	Đơn vị tính	Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	Ghi chú
					trên tạp chí Symbiosis Published online: 16 December 2019; https://doi.org/10.1007/s13199-019-00649-9
III.2	Bài báo trong nước	Bài	03	03	<p>1. Đánh giá hiệu lực của thuốc bảo vệ thực vật sinh học Anisaf SH-01 trong diệt trừ rệp sáp, tuyến trùng trên cây cà phê và hồ tiêu tại Tây Nguyên. Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển nông thôn, số 22/2018.</p> <p>2. Đánh giá tác dụng của chế phẩm sinh học HOTIEU-HTD03 trên cây hồ tiêu tại Tây Nguyên. Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam, số 2 (111) 2020.</p> <p>3. Đánh giá tác dụng của chế phẩm sinh học CAFE-HTD01 trên cây cà phê ghép tại Tây Nguyên. Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam, số 3 (112) 2020</p>
III.3	Hội thảo	Hội thảo	01	01	<p>Hội thảo: “Mô hình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh, hóa học nhằm phát triển bền vững và hiệu quả cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên”.</p> <p>Tổ chức tháng 5/2020 tại TP. Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng</p>

4.1.3. Kết quả đào tạo:

Số TT	Cấp đào tạo, Chuyên ngành đào tạo	Số lượng		Ghi chú (Thời gian kết thúc)
		<i>Theo kế hoạch</i>	<i>Thực tế đạt được</i>	
1	Thạc sỹ, Công nghệ sinh học	01	02	1. Thạc sỹ Đào Thùy Dương. Chuyên ngành: Công nghệ sinh học, đã bảo vệ

				năm 2020 tại Học Viện Khoa học Công nghệ. 2. Thạc sỹ Bùi Văn Khánh. Chuyên ngành: Khoa học cây trồng, đã bảo vệ năm 2019 tại Trường Đại học Tây Nguyên
2	Tiến sỹ, chuyên ngành Vi sinh học	0	01	NCS. Nguyễn Thị Thu, Quyết định số 557/QĐ – HVKHCN ngày 22/7/20217 về việc công nhận tên đề tài, người hướng dẫn nghiên cứu sinh đợt I năm 2017.

4.1.4. Tình hình đăng ký bảo hộ quyền sở hữu công nghiệp, quyền đối với giống cây trồng:

TT	Tên sản phẩm	Đơn vị tính	Theo kế hoạch	Thực tế đạt được
1	Đăng ký bảo hộ quyền sở hữu công nghiệp	Giấy chấp nhận đơn	05	05
1.1	Giải pháp hữu ích về quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh vật nội sinh HTD-CNSH-CF	Giấy chấp nhận đơn	01	01
1.2	Giải pháp hữu ích: sản xuất và sử dụng chế phẩm vi sinh vật đa chủng, đa chức năng HOTIEU-HTD 03 cho cây hồ tiêu	Giấy chấp nhận đơn	01	01
1.3	Sở hữu nhãn mác hàng hóa: Chế phẩm CAFE- HTD01; HOTEU-HTD03; Phân bón nhả chậm cho cây cà phê	Giấy chấp nhận đơn	03	03
1.4	Giải pháp hữu ích: sản xuất và sử dụng chế phẩm vi sinh vật đa chủng, đa chức năng CAFE- HTD01 cho cây cà phê	Bằng độc quyền	0	01
2	Giấy chứng nhận hợp quy	Giấy chứng nhận	03	03
2.1	Giấy chứng nhận hợp quy cho chế phẩm CAFE- HTD01 cho cây cà phê	Giấy chứng nhận	01	01

2.2	Giấy chứng nhận hợp quy cho chế phẩm CAFE- HTD03 cho cây hồ tiêu	Giấy chứng nhận	01	01
2.3	Giấy chứng nhận hợp quy cho chế phẩm phân bón nhả chậm cho cây cà phê	Giấy chứng nhận	01	01

4.2. ĐÁNH GIÁ VỀ HIỆU QUẢ CỦA ĐỀ TÀI

4.2.1. Hiệu quả về khoa học và công nghệ:

- Đề tài đã tạo ra sản phẩm của công nghệ sinh học là các chế phẩm vi sinh vật đa chức năng góp phần thay thế phân bón hóa học, thuốc bảo vệ thực vật sinh học thay thế thuốc hóa học bảo vệ cây trồng góp phần phát triển bền vững cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên.

- Nâng cao năng lực nghiên cứu khoa học và công nghệ của Trung tâm Phát triển công nghệ cao.

- Kết quả nghiên cứu của đề tài góp phần nâng cao dân trí về ứng dụng các chế phẩm sinh học trong canh tác cà phê và hồ tiêu theo hướng bền vững cho người dân tại địa bàn triển khai mô hình.

4.2.2. Hiệu quả về kinh tế xã hội:

- Kết quả nghiên cứu các mô hình của Đề tài góp phần gia tăng giá trị cho cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên, giảm được mức độ sử dụng phân bón và thuốc trừ sâu hóa học, góp phần giảm thiểu ô nhiễm nguồn nước không khí, đồng thời cũng giảm mức độ độc hại cho người nông dân. Giảm chi phí sản xuất, tăng năng suất và chất lượng hàng hóa đóng vai trò quan trọng trong tiêu chí phát triển bền vững.

- Trong quá trình thực hiện mô hình, người dân đã được tập huấn và hiểu được tầm quan trọng của phát triển bền vững đối với cây cà phê và hồ tiêu. Đề tài đã góp phần nâng cao dân trí cho người dân về tầm quan trọng trong sản xuất bền vững cây cà phê và hồ tiêu tại Tây Nguyên.

KẾT LUẬN

Đề tài TN16/C02 đã thực hiện toàn bộ các nội dung và đã hoàn thành toàn bộ các sản phẩm đã đăng ký trong thuyết minh đề tài.

A. Đề tài đã hoàn thiện quy trình sản xuất các chế phẩm sinh học và hoá học dùng cho canh tác bền vững cây cà phê và hồ tiêu tại Tây Nguyên.

- (1) Đã nghiên cứu và phát triển công nghệ sản xuất quy mô phòng thí nghiệm cho chế phẩm VSV nội sinh kích thích sinh trưởng trên cây cà phê kiến thiết (HTD-CNSH-CF).
- (2) Đã hoàn thiện quy trình sản xuất quy mô pilot cho chế phẩm CAFE HTD-01 dùng cho cây cà phê tại Tây Nguyên trên cơ sở nâng cấp chế phẩm từ quy mô phòng thí nghiệm.
- (3) Đã hoàn thiện quy trình sản xuất quy mô pilot cho chế phẩm HOTIEU HTD-03 dùng cho cây hồ tiêu tại Tây Nguyên trên cơ sở nâng cấp chế phẩm từ quy mô phòng thí nghiệm.
- (4) Đã hoàn thiện quy trình sản xuất quy mô công nghiệp cho chế phẩm POLYFA TN3 dùng cho cây cà phê và hồ tiêu trên cơ sở nâng cấp từ quy mô pilot.
- (5) Đã hoàn thiện công nghệ sản xuất quy mô pilot cho phân bón nhả chậm sử dụng cho cây cà phê.
- (6) Đã khảo nghiệm và xây dựng quy trình sử dụng thuốc trừ sâu thảo mộc ANISAF SH01 trên cây cà phê và cây hồ tiêu.

B. Đã xây dựng được 04 qui trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học và hoá học cho mục đích phát triển bền vững và hiệu quả cây cà phê và hồ tiêu ở Tây Nguyên.

- (1) 03 quy trình tích hợp các chế phẩm sinh, hóa học sử dụng cho canh tác bền vững cây cà phê (cà phê giai đoạn kiến thiết; cà phê giai đoạn kinh doanh; cà phê giai đoạn sau kinh doanh).
- (2). 01 quy trình tích hợp các chế phẩm sinh học sử dụng cho canh tác bền vững cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh trên đất bazan Tây Nguyên.

C. Đề tài đã xây dựng thành công 4 mô hình trình diễn áp dụng quy trình sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh hoá học trong canh tác bền vững cây cà phê và hồ tiêu.

- (1). Mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh, hóa học cho cây cà phê giai đoạn kiến thiết với tổng quy mô là 8 ha.
- (2). Mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh, hóa học cho cây cà phê giai đoạn kinh doanh với tổng quy mô là 12 ha.

(3). Mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh, hóa học cho cây cà phê cuối giai đoạn kinh doanh với tổng quy mô thực hiện mô hình trình diễn là 10,5 ha.

(4). Mô hình trình diễn sử dụng tích hợp các chế phẩm sinh học cho cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh với tổng quy mô là 10 ha.

KIẾN NGHỊ

Trên cơ sở các kết quả đạt được của đề tài TN16C02, chúng tôi kiến nghị tiếp tục thực hiện các nghiên cứu nâng cấp quy mô công nghệ để đưa các sản phẩm của đề tài ra phục vụ thực tiễn, cụ thể:

- Nghiên cứu nâng cấp chế phẩm HTD-CNSH-CF từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô pilot. Tiến hành các nghiên cứu khảo nghiệm đánh giá tác dụng của chế phẩm.
- Nghiên cứu nâng cấp chế phẩm CAFE HTD-01, HOTIEU HTD-03 và phân bón nhà chậm từ quy mô quy mô pilot lên quy mô công nghiệp.
- Nghiên cứu mở rộng để bảo tồn và phát triển ứng dụng các loại VSV bản địa có ích trong đất, trong hệ sinh thái nông nghiệp và hệ sinh thái tự nhiên của Tây Nguyên.
- Nghiên cứu hoàn thiện để nâng cao hiệu quả, giảm liều dùng cho các sản phẩm của đề tài.
- Thực hiện các thủ tục pháp lý để thương mại hoá các sản phẩm của đề tài tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

1. Báo cáo khoa học Hội nghị côn trùng học toàn quốc lần thứ 4 (2002), *NXB Nông nghiệp, Hà Nội*.
2. Báo cáo khoa học Hội nghị côn trùng học toàn quốc lần thứ 5 (2005). *NXB Nông nghiệp, Hà Nội*.
3. Báo cáo quốc gia về đa dạng sinh học năm 2011, *Bộ TNMT*.
4. *Báo cáo tổng kết Đề tài cấp Nhà nước KC.04.04 (2001-2004)*: Nghiên cứu công nghệ sản xuất phân bón vi sinh vật đa chủng mới, phân bón chức năng phục vụ chăm sóc cây trồng cho một số vùng sinh thái.
5. *Báo cáo tổng kết đề tài cấp Nhà nước KH-CN-TN3/11-15 (2011-2015)*: Nghiên cứu phát triển và ứng dụng một số chế phẩm có nguồn gốc sinh học trong canh tác chè, cà phê, hồ tiêu theo hướng phát triển bền vững tại Tây Nguyên.
6. *Báo cáo tổng kết đề tài cấp Nhà nước KH-CN-TN3/11-15 (2011-2015)*: Nghiên cứu hoàn thiện và chuyển giao công nghệ sản xuất sản phẩm sinh học POLYFA TN3 góp phần cải tạo đất cho vùng Tây Nguyên.
7. *Báo cáo tổng kết đề tài cấp Nhà nước KH-CN-TN3/11-15 (2011-2015)*: Nghiên cứu quy trình công nghệ sản xuất phân urê và NPK nhả chậm ứng dụng triển khai cho các cây trồng trên Tây Nguyên.
8. *Báo cáo tổng kết đề tài Khoa học cấp Nhà nước KC 04-12 (2001-2005)*. Nghiên cứu chế phẩm sinh học đa chức năng bằng công nghệ sinh học.
9. *Báo cáo tổng kết Đề tài Khoa học cấp Nhà nước KH-CN.02.07B (1996-2000)*: Nghiên cứu công nghệ vi sinh (VK, nấm, virus) để sản xuất chế phẩm sinh học BVTV trong phòng trừ sâu hại cây trồng.
10. *Chi Cục bảo vệ thực vật Lâm Đồng (2013)*. Quy trình kỹ thuật canh tác chè cành cao sản (*ban hành kèm theo Quyết định số 1251/QĐ-SNN ngày 13/12/2012 của UBND Tỉnh Lâm Đồng*).
11. *Đinh Thúy Hằng, Trần Triết (2009)*. Quá trình cố định nitơ trong rừng ngập mặn Cần Giờ và các vi sinh vật tham gia. *Tạp chí Công nghệ sinh học, Đại học Sư Phạm Đà Nẵng số 7, tr. 101 – 106*.
12. *Hoàng Hoa Long, Dorothea M, Ian TB (2013)*. Vi khuẩn nội sinh Bacillus sp. B55 phân lập từ *Nicotiana attenuata* kích thích sinh trưởng và tăng khả năng thích nghi của cây chủ trong điều kiện tự nhiên. *Hội nghị Khoa học Công nghệ sinh học toàn quốc 2, tr. 329-333*.
13. *Lai Quốc Chí, Nguyễn Thị Đơn, Cao Ngọc Diệp (2012)*. Tuyển chọn và nhận diện vi khuẩn cố định đạm (Có khả năng hòa tan lân và kali) phân lập từ vật liệu phong hóa của vùng núi đá hoa cương tại núi cấm, tỉnh An Giang. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ số 24a, tr 60 – 69*.
14. *Lê Như Kiều, Ngô Đình Bình, Nguyễn Đức Hoàng, Lê Trọng Tài* . Đánh giá thực trạng sản xuất, ứng dụng các chế phẩm vi sinh và đề xuất định hướng phát triển công nghệ vi sinh trong nông nghiệp tại Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam - Số 3(112)/2020 . tr.98-106*.
15. *Lê Quốc Phong (2012)*, “Sản xuất và tiêu thụ phân bón thế giới”, online: <http://iasvn.org/chuyen-muc/San-xuat-va-tieu-thu-phan-bon-the-gioi>.
16. *Nguyễn Cửu Khoa và cộng sự, Tạp chí Hóa học 2009, số 47*.
17. *Nguyễn Cửu Khoa, Trần Đức Phương, Nguyễn Công Trục (2009)*. *Tạp chí Hóa học, T. 47 (4A), tr. 592 - 596, 2009*.
18. *Nguyễn Ngọc Châu (2003)*. Tuyển trùng thực vật và cơ sở phòng trừ, *NXB Khoa học và Kỹ thuật*.

19. Nguyễn Thị Thúy Nga, Phạm Quang Thu (2009). Phân lập, tuyển chọn vi sinh vật phân giải lân có hiệu lực cao và đặc điểm sinh học của chúng để sản xuất phân vi sinh cho cây lâm nghiệp. *Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp – Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam*, số 3, tr. 1038 – 1045.
20. Nguyễn Xuân Thanh, Phạm Thị Thùy (2005). Nghiên cứu đặc điểm sinh học của rệp sáp *Pseudococcus citri* Risso hại rễ cà phê và khả năng sử dụng nấm *Metarhizium anisopliae* để phòng trừ tại Đắk Lắk năm 2002-2003. *Báo cáo khoa học Hội nghị côn trùng học toàn quốc lần thứ 5, NXB Nông nghiệp*, tr. 479-483.
21. Phạm Văn Toàn và cs. (2005). Nghiên cứu công nghệ sản xuất phân bón vi sinh vật đa chủng mới, phân bón chức năng phục vụ chăm sóc cây trồng cho một số vùng sinh thái. *Báo cáo tổng kết đề tài KH cấp Nhà nước KC 04.04*.
22. Phan Thị Thanh Hiền, luận văn thạc sĩ Hóa Hữu Cơ (Đại học Cần Thơ, 2006).
23. Quyết định số 1251/QĐ-SNN ngày 13/12/2012 của UBND tỉnh Lâm Đồng (2012) Quy trình kỹ thuật canh tác một số loại cây trồng trên địa bàn tỉnh Lâm Đồng.
24. Trần Thanh Phong, Cao Ngọc Diệp (2012), Phân lập, tuyển chọn một số chủng vi khuẩn cố định đạm nội sinh trong rễ cây ngô tại một số địa điểm của tỉnh Đắk Lắk. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ số 24b*, tr. 234 – 241.
25. Phạm Hữu Lý và Đồ Bích Thanh, *Tạp chí Hoá học 2005*, số 3, tr. 67-71.
26. Văn Thị Phương Như, Cao Ngọc Diệp (2013). Phân lập và đặc tính vi khuẩn nội sinh cây lúa (*Oryza sativa* L.) trồng trên đất của tỉnh Phú Yên, Việt Nam. *Hội nghị Khoa học Công nghệ sinh học toàn quốc 2*, tr. 450-454.
27. Nguyễn Thanh Tùng và cs, *Tạp chí KH&CN (2005)*, số 43, tr. 66.
28. Nguyễn Văn Sanh (2009). Nghiên cứu xây dựng thang dinh dưỡng khoáng trên lá và bước đầu thử nghiệm bón phân theo chẩn đoán dinh dưỡng cho cà phê vối kinh doanh tại Đắk Lắk. *Luận án tiến sĩ Nông nghiệp, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội*.
29. Nguyễn Tiến Sĩ (2009). Nghiên cứu một số tính chất cơ bản của đất phát triển trên đá bazan phục vụ thâm canh cà phê tỉnh Đắk Nông. *Luận án tiến sĩ Nông nghiệp, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội*.
30. Lê Hồng Lịch (2008). Nghiên cứu sử dụng phân lân hợp lý cho cây cà phê vối giai đoạn kinh doanh trên đất bazan ở Đắk Lắk. *Luận án tiến sĩ Nông nghiệp, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội*.
31. Lê Ngọc Báu (2001). Nghiên cứu một số giải pháp kỹ thuật thâm canh cà phê vối (*Coffea canephora* var. *robusta*) đạt hiệu quả kinh tế cao tại Đắk Lắk. *Luận án Tiến sĩ nông nghiệp, Trường Đại học Nông nghiệp I, Hà Nội*.

Tài liệu tiếng Anh

32. Adhikari TB, Basnyat R (1990). Phenotypic Characteristics of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* from Nepal. *European Journal of Plant Pathology*, vol. 105, p.303–305.
33. Agrawal, A.K. and P. Parihar (2009). *Industrial Microbiology: Fundamentals and Applications*. Abe Books Seller, India.
34. Ahmed S., Koppel B (1986). Use of Neem and other botanical materials for pest control by farmers in India. *Proceedings of the Third International Neem Conference, Nairobi, 1986*, p. 632-626.
35. Altieri MA (2004). Linking ecologists and traditional farmers in the search for sustainable agriculture. *Front Ecol Environ* 2, p. 35-42.

36. Andreote FD, Gumiere T, Durrer A (2014). A Exploring interactions of plant microbiomes. *Sci Agric* 71, p. 528-539.
37. Aravind R., Eapen S, Kumar A., Antony D, (2010). Screening of endophytic bacteria and evaluation of selected isolates for suppression of burrowing nematode (*Radopholus similis* Thorne) using three varieties of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Crop Protection* 29(4), p. 318-324.
38. Aravind R., Kumar A., Eapen S.J., Ramana K.V. (2009). Endophytic bacterial flora in root and stem tissues of black pepper (*Piper nigrum* L.) genotype: isolation, identification and evaluation against *Phytophthora capsici*. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02486>.
39. Arun K.S. (2007). Bio-fertilizers for sustainable agriculture. *Sixth edition, Agribios publishers, Jodhpur*, p.76-77
40. Azevedo JL., Maccheroni J., Pereira O., Ara WL. (2001). Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants,.*Electron J Biotechnol* 3, p. 40-65.
41. Benhamou N., Bélanger RR., Paulitz TC. (1996). Induction of differential host responses by *Pseudomonas fluorescens* in Ri-TDNA transformed pea roots upon challenge with *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi and *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 86, p.1174-1185.
42. Bent E., Chanway C., (1998). The growth-promoting effects of a bacterial endophyte on lodgepole pine are partially inhibited by the presence of other rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 44(10), p.980–988.
43. Berg G., Eberl L, Hartmann A (2005). The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00891.x>
44. Berg G., Krechel, A., Ditz, M., Faupel, A., Ulrich, A., Hallmann, J. (2005). Comparison of endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities and their antagonistic activity against plant pathogenic fungi. *FEMS Microb Ecol* 51, p. 215–229.
45. Bullangpoti V., Mujchariyakul W., Laksanavilat N., Junhirun P. (2008). Acute toxicity of essential oil compounds (thymol and 1,8-cineole) to insectivorous guppy. *Poecilia reticulata* Peters, 1859. *Agriculture and Natural Resources* 52, p. 192 -194.
46. Bullangpoti V., Wajnberg E., Audant P., Feyereisen R. (2012). Antifeedant activity of *Jatropha gossypifolia* and *Melia azedarach* senescent leaf extracts on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and their potential use as synergists. *Pest Manag. Sci.*, 68, p. 1534-1540.
47. Bylund F., E. Collet S.O., Enfors and G. Larsson. (1998). Substrate gradient formation in the large- scale bioreactor lowers cell yield and increases by-product formation. *Biopro. Eng.*,18, p. 171-180.
48. Carsten SJ., Mathis HH. (2014) *Agricultural soils, pesticides and microbial diversity*. *Curr Opin Biotechnol* 27, p.15-20.
49. Chanway CP. (1997). Inoculation of Tree Roots with Plant Growth Promoting Soil Bacteria: An Emerging Technology for Reforestation. *Forest Science*, 43 (1), p. 99–112.
50. Chung H.J., W. Bang and M.A. Drake. (2006). Stress response of *Escherichia coli*, *Comp. Review. Food Sci. Food Safe.*,5, p. 52-64.

51. Cocking EC. (2003). Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. *Plant Soil* 252, p.169-175.
52. Conn VM., Walker AR., Franco CMM. (2008). Endophytic actinobacteria induce defense pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant Microbe Interact* 21, p. 208–218.
53. Coomb T., Michelsen P., Christopher MM. (2004). Evaluation of endophytic actinobacteria as antagonists of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in wheat. *Biology Control* 29(3), p. 259-366.
54. De-Bruijn FJ. (2015). *Biological nitrogen fixation*. In: B. Lugtenberg (ed). *Principles of Plant-Microbe Interactions*. Springer International Publishing Switzerland, Heidelberg, p. 215-224.
55. Fox R.I. (1978). The applicability of published scale up criteria to commercial fermentation processes. *Pros.1st Eur.con.biotechnol.,1*, p. 80-83.
56. Garcia-Ochoa F. and E. Gomez. (2009). Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: an overview. *Biotechnology advances., 27*(2), p. 153-176.
57. Grainger M. và Ahmed S. (1988) Handbook of plants with pest-control properties. New York, USA, Wiley & Sons.
58. Hallmann J, A. Quadt-Hallmann, WF Mahafee and JW Kloepper. (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J.Microbiol.* 43, p. 895 – 914.
59. Harrison RB., Strahm B. (2008). Soil Formation, *Encyclopediaof Ecology* 22, p. 3291–3295.
60. Huo Z., Yang X., Raza W., Huang Q., Xu Y., Shen Q. (2010). Investigation of factors influencing spore germination of *Paenibacillus polymyxa* ACCC10252 and SQR-21. 87(2):527-36. doi: 10.1007/s00253-010-2520-8.
61. Jacoby R., Peukert M., Succurro A., Koprivova A., Kopriva S. (2017). The role of soil microorganisms in plant mineral nutrition-current knowledge and future directions. *Front. Plant Sci* 8, p. 1617-1622.
62. Jem K. J. (1989). Scale down techniques in fermentation, *Biopharma.* 2, p.30-39.
63. Johnner P. S., H. W. Leel, Y. C. Kim and M. W. Chang. (2013). A: Scaling-up Synthesis from Laboratory Scale to Pilot Scale and to near Commercial Scale for Paste-Glue Production. *J. of Eng. and Tech. Sci.,45*(1), p. 9-24.
64. Knowles, B.H. and D.J. Ellar, (1987). Colloid-osmotic lysis is a general feature of the mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins with different insect specificity. *Biochim. Biophys. Acta* 924, p. 509–518.
65. Kuiper Irene, Lagendijk EL, Bloemberg GV, Lugtenberg BJJ (2004). Rhizoremediation: a beneficial plant-microbe interaction 17(1), p. 6-15. doi: 10.1094/MPMI.2004.17.1.6.
66. Lara, A.R.,E. Galindo,O.T. Ramirezand and L.A. Palomares. (2006). Living with heterogeneities in bioreactors: understanding the effects of environmental gradients on cells. *Mol. Biotechnol.,34*(3), p. 355-381.
67. Larsson, G., M. Tornkvist, E. S. Wernersson,C. Tragardh,H. Noorman and S.O. Enfors. (1996). Substrate gradients in bioreactors: Origin and consequences. *Biopro. Eng.,14*(6), p. 281-289.
68. Lilly, M.D. 1983. Problems in process scale up. In: Nisbet,I.J. and D.J. Wintanley (Ed.), Bioactive microbial products 2, Development and products. *Academic process, London*, p. 79-90.

69. Lin, H.Y. and Neubauer, P. 2000. Influence of controlled glucose oscillations on a fed-batch process of recombinant *Escherichia coli*. *J. Biotechnol.*,79(1), p. 27-37.
70. Lindow SE, Brandl MT (2003). Microbiology of the phyllosphere. *Appl Environ Microbiol* 69, p. 1875–1883. doi:10.1128/AEM.69.4.1875-1883.
71. Mendes R, Garbeva P, Raaijmakers JM (2013). Therhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol Rev* 37, p. 634-663.
72. Michael J. W., N. L. Morgan, J. S. Rokey, G. Higton. (2002). *Industrial Microbiology: An Introduction*. Blackwell Science, Oxford, UK.
73. MKJ El-Shatnawi, IM Makhadmeh (2001). Ecophysiology of the plant–rhizosphere system. *Journal of Agronomy and Crop Science* 187 (1), p. 1-9.
74. Mus F, Crook MB, Garcia K, Costas AG, Geddes B A, Kouri ED (2016). *Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes*. *Appl Environ Microbiol* 82, p. 3698– 3710.
75. Orgorzaly, H.J. (1958). The use of pilot plants in scale up. In: R. Fleming, (Ed.), *Scale up Practice*
76. Parkin TB, Doran JW, Vizcaino EF (1996). Field and laboratory tests of soil respiration In. J.W. Doran and A.J. Jones (ed.) *Methods for assessing soil quality*. SSSA Spec. Publ. 49. SSSA, Madison, WI. p. 231-246.
77. Rice CW, TB Moorman and M Beare (1996). Role of microbial biomass carbon and nitrogen in soil quality. p. 203-215.
78. Russo A, Carrozza GP, Vettori L, Felici C, Cinelli F, et al.(2012). Plant Beneficial Microbes and their Application in Plant Biotechnology. *Innovations in Biotechnology*. INTECH Open Access Publisher, p. 57-72.
79. Samson RA, Evans HC, Latgé JB (1981). *Atlas of Entomopathogenic Fungi*. p. 1-4.
80. Santi C, Bogusz D, Franche C (2013). Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Ann Bot* 111. P.743-767.
81. Schulz B, Boyle C, Draeger S, Römmert A-K, Krohn K (2002). Endophytic fungi: a source of biologically active secondary metabolites. *Mycol Res* 106, p. 996–1004.
82. Schulz S, Brankatschk R, Dümig A, Kögel-Knabner, Schloter M (2013). The role of microorganisms at different stages of ecosystem development for soil formation. *Biogeosciences* 10: 3983-3996.
83. Sharma A, Johria B.N. (1999). Growth promoting influence of siderophore-producing *Pseudomonas* strains GRP3A and PRS9 in maize (*Zea mays* L.) under iron limiting conditions. *Microbiological Research* 158(3), p. 243-248.
84. Sikander Ali et al. A Review Scale Up Fermentation Procedure. *Int J S Res Sci. Tech.* 2018 Mar-Apr; 4(5), p. 1301-1307
85. Srikhong P., S. Visetson, S. Vaj rodaya et al. (2005). Efficiency of seed yam bean extracts containing pachyrhizin on levels of esterase in larva of *Aedes aegyti* L. *The 7th Nat. plant Prot. Conf. proceed*, p. 101-108.
86. Strobel G, Daisy B, Castillo U, Harper J (2004). Natural products from endophytic microorganisms. *J Nat Prod* 67, p. 257–268.

87. Sturz AV and BG Matheson. (1996). Populations of endophytic bacteria which influence host-resistance to Erwinia-induced bacterial soft rot in potato tubers. *Plant Soil* 184, p. 265-271.
88. Timmusk S, van West P, Gow NA, Huffstutler RP. (1999). Paenibacillus polymyxa antagonizes oomycete plant pathogens Phytophthora palmivora and Pythium aphanidermatum. *J Appl Microbiol.* 2009 May;106(5), p. 1473-1481.
89. Toor MD, Adnan M, Raza A, Ahmed R, Arshad A et al (2020). *Land Degradation and its Management: A Review.* Int J Environ Sci 25(1), p. 54-57.
90. Van-der H, Bardgett MGA, Van-Straalen NM (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol Lett* 11(3), p. 296–310.
91. Verbon EH, Liberman LM (2016). Beneficial microbes affect endogenous mechanisms controlling root development. *Trends Plant Sci* 21, p. 218-229.
92. Zhan F., et al. (2004). *Journal of Applied Polymer Science* 2004, p. 3417-3421.
93. Zhang Y, Lubberstedt T, Xu ML (2013) The genetic and molecular basis of plant resistance to pathogens. *J Genet Genomics* 40, p. 23-35.
94. Zinniel et al. (2002). Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *Appl Environ Microbiol* 68(5), p. 2198-2208.
95. Zolla G, Bakker MG, Badri DV, Chaparro JM, Sheflin AM et al. (2013). Understanding root-microbiome interactions. In: F.J. de Bruijn (ed). *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere.* Wiley Blackwell, 2, p. 745-754.

Tài liệu tiếng Pháp

1. Boyer (1982), Les Facteurs de fertilité des sols, *ORSTOM - Paris*, pp. 89-110.

MỘT SỐ HÌNH ẢNH TƯ LIỆU THỰC HIỆN CỦA ĐỀ TÀI



**Ảnh buổi nghiệm thu mô hình tại hội trường đại học Đà Lạt
(Thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng)**



**Ảnh vườn mô hình trình diễn trên cây cà phê cuối kinh doanh
(xã Nam Hà, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng)**



Ảnh những ngày đầu thực hiện mô hình trình diễn trên cà phê tái canh (Di Linh, Lâm Đồng)



Thực hiện mô hình trình diễn tại vườn tiêu kinh doanh



Yếu tố cấu thành năng suất cà phê kinh doanh





Khảo nghiệm các chế phẩm tại DAKLAK



Khảo nghiệm các chế phẩm tại ĐẮK LẮK

Phụ lục 3.2.1. CHI TIẾT CHI PHÍ GIÁ THÀNH CHẾ PHẨM CAFE-HTD 01

Chi phí môi trường lên men (1)

Thành phần	Giống VSV <i>*Azoto; * Acetobacter; Azospirillum*; Bacillus; Aspergillus</i>					Hóa chất cho sản xuất 1 tấn chế phẩm (kg)	Đơn giá, VNĐ/kg	Thành tiền (VNĐ)
	<i>Azot*</i>	<i>Acet*</i>	<i>Azos*</i>	<i>Bac*</i>	<i>Asp*</i>			
Ri mật	-	30,0	-	20,0	-	50	25.000	1.000.000
Manitol	10,0	-	-	-	-	10	900.000	900.000
Saccharose	10,0	-	-	-	-	10	25.000	250.000
Glucose	-	-	10,0	-	20,0	30	40.000	1.200.000
Khoai tây					20,0	20	20.000	400.000
Cao nấm men	0,5	-	-	-	-	0,5	1.500.000	750.000
Nước chiết giá đỗ	-	-	200 ml	-	-	50	9.000	450.000
NaNO ₃	-	-	-	3,0	-	3	100.000	300.000
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,1	-	1,0	-	-	1,1	130.000	143.000
K ₂ HPO ₄	0,3	0,5	0,5	1,0	1,5	3,8	160.000	608.000
KH ₂ PO ₄	0,3	0,5	0,5	1,0	-	2,3	180.000	414.000
MgSO ₄	0,06	0,2	0,3	-	1,5	2,00	750.000	360.000
NaCl	0,2	0,2	-	-	-	0,4	25.000	10.000
CaCO ₃	0,2	1,0	1,0	-	-	2,2	15.000	30.000
Tổng chi phí hóa chất: (1)								6.815.000

Chi phí vật liệu chất mang cho chế phẩm sản phẩm (2)

Thành phần chất mang (%)			Lượng chất cho 1000 kg chế phẩm	Đơn giá, (VNĐ/kg (l))	Thành tiền (VNĐ)
1.	Than bùn	40	400	3.500	1.400.000
2.	Trấu	7,5	75	2.000	150.000
3.	Đất phù sa	5	50	2.000	100.000
4.	Cao lanh	46	460	7.500	3.450.000
5.	Cám	0,65	65	15.000	975.000
6.	CaCO ₃	0,35	35	15.000	185.000
7.	Ri mật	0,5	5	50.000	250.000
Tổng chi phí chất mang: (2)					6.510.000

Chi phí điện sản xuất 1 tấn chế phẩm (3)

Chi phí điện sản xuất 1 tấn chế phẩm	Tiêu tốn	Đơn giá cho 1m ³ , 1(Kw)	Thành tiền (VNĐ)
Nước làm môi trường và vệ sinh thiết bị (ước tính)	10	7.500	75.000
Điện năng (ước tính)	1.500	2.000	3.000.000
Tổng chi phí điện nước: (4)			3.075.000

**Phụ lục 3.2.2. SỐ LIỆU KẾT QUẢ KHẢO NGHIỆM
DIỆN HẸP CHẾ PHẨM CAFE-HTD 01 TRÊN CÂY CÀ PHÊ GIAI ĐOẠN KIẾN THIẾT**

Ảnh hưởng chế phẩm CAFE-HTD01 đến sinh trưởng và năng suất cây cà phê giai đoạn kiến thiết

Công thức TN	Chỉ tiêu sinh trưởng		Yếu tố cấu thành năng suất			Năng suất	
	Số cành/cây	Chiều dài cành (cm)	Số chùm quả/cành	Số quả/chùm	Tỷ lệ rụng quả (%)	Năng suất quả tươi/ha (kg)	Năng suất nhân (tấn/ha)
Địa điểm 1: xã Hoà Xuân, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk							
CTkd1	20	160	15,8	32,5	26,6	16.020	3,720
CTkd2	20	156	15,2	30,2	28,8	15.200	3,530
CTkd3	18	150	14,5	30,0	29,0	15.005	3,490
CTkd4	18	148	13,6	28,6	29,2	14.300	2,940
CTkd5	17	142	13,0	26,0	31,5	10.500	2,445
CV%	9,86	11,4	6,2	14,6	3,8	9,4	10,2
LSD _{0.05}	2,05	18,65	2,2	3,4	3,3	960	360
Địa điểm 2: xã Tà Nung, Đà Lạt, Lâm Đồng							
	Trung bình số cặp lá mới mọc/cành	Sự tăng trưởng chiều dài cành (cm)	Số chùm quả/cành	Số quả/chùm	Tỷ lệ rụng quả (%)	Năng suất quả tươi/ha (kg)	Năng suất nhân (tấn/ha)
CTkd1	8,5	32,8	17,0	25,7	21,5	14.810	3,680
CTkd2	8,3	31,5	17,5	16,6	21,0	12.950	3,230
CTkd3	8,2	30,2	19,4	18,5	24,2	12.350	3,020
CTkd4	8,0	29,5	19,6	18,6	23,9	12.350	3,020
CTkd5	8,0	27,7	18,4	21,0	27,5	13.490	2,720
CV%	0,0	1,3	0,0	4,6	3,4	3,4	5,2
LSD _{0.05}	ns	1,0	ns	1,4	2,3	51	62

Ghi chú: ns khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê

Ảnh hưởng chế phẩm CAFE-HTD01 đến diễn biến sâu bệnh hại trên cây cà phê giai đoạn kiến thiết

Công thức TN	Tỷ lệ cây có rệp sáp (%)		Bệnh cây vàng lá (%)		Bệnh đốm mắt cua (%)		Bệnh khô cành (%)		Tỷ lệ cây bị u sưng rỗ (%)		Số lượng tuyến trùng (con/100 g đất)	
	TTN	SXL	TTN	SXL	TTN	SXL	TTN	SXL	TTN	SXL	TTN	SXL
	Địa điểm 1: xã Hoà Xuân, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk											
CTkd1	2,3	1,0	2,4	0,5	1,1	0,2	2,0	0,3	5,1	0,3	75	10
CTkd2	2,3	1,3	2,1	1,1	1,0	0,3	2,2	1,0	4,7	0,5	84	19
CTkd3	2,6	3,6	2,5	2,0	0,5	0,4	3,0	2,5	5,0	1,1	68	54
CTkd4	2,7	3,5	3,6	3,6	1,2	0,7	1,7	2,2	5,4	5,7	72	79
CTkd5	2,5	4,5	3,2	5,4	1,0	1,5	2,2	3,2	4,9	5,2	71	88
	Địa điểm 2: xã Tà Nung, Đà Lạt, Lâm Đồng											
CTkd1	1,3	0,5	1,0	0,5	0,0	0,0	2,0	0,5	2,1	0,3	35	5
CTkd2	2,0	1,3	1,3	1,0	0,0	0,0	2,0	0,8	2,7	0,5	34	9
CTkd3	1,6	3,0	1,5	1,5	0,0	0,0	1,5	1,0	2,0	1,1	38	22
CTkd4	1,7	3,2	1,7	1,6	0,0	0,0	1,0	1,1	2,4	2,7	32	23
CTkd5	1,5	4,5	1,0	2,5	0,0	0,0	1,0	2,0	1,9	2,2	31	38

Ghi chú: TTN: trước khi tiến hành thí nghiệm (1/2018); SXL: sau bón chế phẩm 6 tháng (10/2018).

Ảnh hưởng chế phẩm CAFE-HTD01 đến chỉ tiêu hóa tính đất trồng cà phê giai đoạn kiến thiết

Chỉ tiêu hoá tính	Địa điểm 1: xã Hoà Xuân, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk						Địa điểm 2: xã Tà Nung, Đà Lạt, Lâm Đồng					
	Trước TN	Sau thí nghiệm					Trước TN	Sau thí nghiệm				
		CTkt 1	CTkt 2	CTkt 3	CTkt 4	CTkt 5 (Đ/C)		CTkt 1	CTkt 2	CTkt 3	CTkt 4	CTkt 5 (Đ/C)
pH _{KCl}	4,74	4,78	4,71	4,68	4,65	4,65	4,59	4,61	4,61	4,59	4,59	4,58
Hữu cơ (OM %)	3,25	3,42	3,50	3,27	3,22	3,15	4,51	4,71	4,61	4,56	4,58	3,58
N tổng số (%)	0,18	0,22	0,20	0,19	0,18	0,16	0,12	0,14	0,13	0,13	0,12	0,11
P tổng số (%)	0,12	0,12	0,10	0,10	0,10	0,08	0,09	0,12	0,10	0,10	0,10	0,08
K tổng số (%)	0,06	0,08	0,07	0,06	0,06	0,06	0,07	0,08	0,07	0,06	0,06	0,06
N dễ tiêu (mg/100g đất)	17,7	19,9	18,7	18,9	18,6	18,5	19,6	23,3	22,5	21,21	20,53	20,11
P ₂ O ₅ dễ tiêu (mg/100g đất)	6,95	8,23	8,10	8,00	7,32	6,72	14,11	17,93	17,10	16,16	15,12	15,01
K ₂ O dễ tiêu (mg/100 g đất)	9,10	12,20	11,10	11,00	10,10	9,65	19,10	21,20	21,10	20,10	19,94	19,65

Ghi chú: Trước TN: trước khi tiến hành thí nghiệm (1/2018); Sau thí nghiệm: sau bón chế phẩm 6 tháng (10/2018).

**Phụ lục 3.2.4. SỐ LIỆU KẾT QUẢ KHẢO NGHIỆM DIỆN RỘNG CHẾ PHẨM CAFE-HTD 01 TRÊN CÂY CÀ PHÊ
GIAI ĐOẠN KIẾN THIẾT**

Ảnh hưởng chế phẩm CAFE-HTD01 đến sinh trưởng và năng suất cây cà phê giai đoạn kiến thiết

Công thức TN	Chỉ tiêu sinh trưởng		Yếu tố cấu thành năng suất			Năng suất	
	Số cành/cây	Chiều dài cành (cm)	Số chùm quả/cành	Số quả/chùm	Tỷ lệ rụng quả (%)	Năng suất quả tươi/ha (kg)	Năng suất nhân (tấn/ha)
Địa điểm 1: Cư Dluê, xã Hoà Xuân, TP. Buôn Ma Thuột (CF_{KT1})							
CF _{KT} TN	20	153	15,0	30,8	25,2	15.000	3,350
CF _{KT} Đ/C	17	146	14,0	26,4	30,2	11.200	2,640
CV%	10,8	11,0	8,2	14,0	9,8	12,2	14,2
P	*	*	ns	*	*	*	*
Địa điểm 2: xã Quảng Tiến, huyện Cư M'gar, tỉnh Đắk Lắk (CF_{KT2})							
	Trung bình số cặp lá mới mọc/cành	Sự tăng trưởng chiều dài cành (cm)	Số chùm quả/cành	Số quả/chùm	Tỷ lệ rụng quả (%)	Năng suất quả tươi/ha (kg)	Năng suất nhân (kg)
CF _{KT} TN	21	156	16,0	31,8	25,6	15.500	3.450
CF _{KT} Đ/C	18	147	14,0	27,5	31,2	11.300	2.690
CV%	10,9	11,1	8,3	14,1	9,8	12,4	14,3
P	*	*	ns	*	*	*	*

Ghi chú: P là xác suất thể hiện sự khác biệt giữa các công thức; ns khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê; khác biệt tin cậy mức 95%

** khác*

Ảnh hưởng chế phẩm CAFE-HTD01 đến diễn biến sâu bệnh hại trên cây cà phê giai đoạn kiến thiết

Công thức TN	Tỷ lệ cây có rệp sáp sau 6 tháng (%)	Bệnh cây vàng lá (%)	Bệnh rỉ sắt (cấp)	Bệnh đốm mắt cua (%)	Bệnh khô cành (%)	Tỷ lệ cây bị u sưng rễ sau 6 tháng (%)	Số lượng tuyến trùng sau 6 tháng (con/100 g đất)
Địa điểm 1: Cư Dluê, xã Hoà Xuân, TP. Buôn Ma Thuột (CF_{KT1})							
CF _{KT} TN	1,0	1,0	1	2,0	2,0	0,5	15
CF _{KT} Đ/C	10,5	6,4	3	12,2	12,0	6,5	90
CV%	12,7	9,5	10,2	7,5	10,3	10,3	10,6
P	*	*	*	*	*	*	*
Địa điểm 2: xã Quảng Tiến, huyện Cư M'gar, tỉnh Đắk Lắk (CF_{KT2})							
CF _{KT} TN	1,0	1,1	1	2,1	2,3	0,7	14
CF _{KT} Đ/C	10,2	6,7	3	12,6	12,2	6,8	91
CV%	12,6	9,2	10,2	7,6	10,4	10,2	10,5
P	*	*	*	*	*	*	*

Ghi chú: P là xác suất thể hiện sự khác biệt giữa các công thức; ns khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê; biệt tin cây mức 95%

* khác

Ảnh hưởng chế phẩm CAFE-HTD01 đến chỉ tiêu hóa tính đất trồng cà phê giai đoạn kiến thiết

Chỉ tiêu hoá tính	Địa điểm 1: Cư Dluê, xã Hoà Xuân, TP. Buôn Ma Thuột (CF _{KT1})			Địa điểm 2: xã Quảng Tiên, huyện Cư M'gar, tỉnh Đắk Lắk (CF _{KT2})		
	Trước TN	Sau thí nghiệm		Trước TN	Sau thí nghiệm	
		CF _{KT} TN	CF _{KTĐ/C}		CF _{KT} TN	CF _{KTĐ/C}
pH _{KCl}	4,74	4,90	4,80	5,01	5,13	4,85
Hữu cơ (OM %)	3,25	3,55	3,30	3,45	4,15	3,95
N tổng số (%)	0,17	0,20	0,15	0,21	0,23	0,19
P tổng số (%)	0,13	0,14	0,13	0,17	0,20	0,19
K tổng số (%)	0,06	0,07	0,06	0,06	0,08	0,07
P ₂ O ₅ dễ tiêu (mg/100g đất)	6,95	8,20	6,90	7,05	8,15	7,45
K ₂ O dễ tiêu (mg/100 g đất)	9,10	11,0	9,75	9,45	12,05	10,15

Ghi chú: Trước TN: trước khi tiến hành thí nghiệm (1/2018); Sau thí nghiệm: sau bón chế phẩm 6 tháng (10/2018).

**Phụ lục 3.2.3. SỐ LIỆU KẾT QUẢ KHẢO NGHIỆM DIỆN HẸP CHẾ PHẨM CAFE-HTD 01
TRÊN CÂY CÀ PHÊ GIAI ĐOẠN KINH DOANH**

Ảnh hưởng chế phẩm CAFE-HTD01 đến sinh trưởng và năng suất cây cà phê giai đoạn kinh doanh

Công thức TN	Chỉ tiêu sinh trưởng		Yếu tố cấu thành năng suất			Năng suất	
	Trung bình số cặp lá mới mọc/cành	Sự tăng trưởng chiều dài cành (cm)	Số chùm quả/cành	Số quả/chùm	Tỷ lệ rụng quả (%)	Năng suất quả tươi/ha (kg)	Năng suất nhân (tấn/ha)
Địa điểm 1: xã Hoà Xuân, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk							
CTkd1	7,67	39,00	11,2	30	25,8	17850	4,151
CTkd2	7,42	37,20	10,4	28	26,2	15650	3,640
CTkd3	7,00	33,77	9,8	25	27,0	15200	3,535
CTkd4	7,15	33,23	9,0	24	28,6	14630	3,402
CTkd5	6,25	32,93	7,5	23	30,5	13770	3,202
Địa điểm 2: thị trấn Di Linh, huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng							
CTkd1	7,25	34,95	17,5	28	18,5	20070	4,620
CTkd2	7,10	33,75	17,2	27	17,2	19260	4,450
CTkd3	6,85	32,60	15,3	24	21,0	18410	4,210
CTkd4	6,90	31,80	15,0	25	20,7	18510	4,250
CTkd5	6,00	27,07	14,3	22	22,5	15070	3,510

Ảnh hưởng chế phẩm CAFE-HTD01 đến diễn biến sâu bệnh hại trên cà phê giai đoạn kinh doanh

Công thức TN	Tỷ lệ cây có rệp sáp (%)		Bệnh cây vàng lá (%)		Bệnh thán thư (%)		Bệnh khô cành (%)		Tỷ lệ cây bị u sưng rễ (%)		Số lượng tuyến trùng (con/100 g đất)	
	TTN	SXL	TTN	SXL	TTN	SXL	TTN	SXL	TTN	SXL	TTN	SXL
	Địa điểm 1: xã Hoà Xuân, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk											
CTkd1	4,2	2,2	12,2	5,7	12,1	5,2	7,0	4,1	12,7	4,4	680	386
CTkd2	4,9	2,9	12,5	5,9	12,5	5,3	7,3	4,3	13,2	5,6	710	405
CTkd3	3,7	4,1	12,3	7,7	12,5	7,4	7,5	6,5	12,5	6,2	695	460
CTkd4	4,5	4,3	13,1	8,2	12,2	7,7	7,7	6,2	13,1	7,6	750	450
CTkd5	4,7	11,2	13,3	15,6	12,0	15,5	7,2	11,5	12,8	12,5	725	750
	Địa điểm 2: thị trấn Di Linh, huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng											
CTkd1	5,6	2,9	11,5	4,5	8,0	4,1	12,0	7,5	10,5	5,7	473	241
CTkd2	5,5	3,4	11,2	5,0	8,2	4,2	12,2	7,8	10,9	5,4	454	239
CTkd3	4,9	4,7	11,6	6,5	8,5	6,0	11,5	9,0	10,4	7,5	435	315
CTkd4	4,7	4,4	11,2	6,6	8,0	6,1	11,0	9,1	10,7	7,3	420	314
CTkd5	5,8	12,8	11,0	13,5	8,7	11,0	11,3	12,0	10,6	11,1	415	536

Ghi chú: TTN: trước khi tiến hành thí nghiệm (1/2018); SXL: sau bón chế phẩm 6 tháng (10/2018).

Ảnh hưởng chế phẩm CAFE-HTD01 đến hóa tính đất trồng cà phê giai đoạn kinh doanh

Chỉ tiêu hoá tính	Địa điểm 1: xã Hoà Xuân, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk						Địa điểm 2: thị trấn Di Linh, huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đông					
	Trước TN	Sau thí nghiệm					Trước TN	Sau thí nghiệm				
		CTkd1	CTkd2	CTkd3	CTkd4	CTkd5		CTkd1	CTkd2	CTkd3	CTkd4	CTkd5
pH _{KCl}	5,1	5,22	5,12	5,00	5,10	4,95	4,54	4,87	4,62	4,59	4,60	4,55
Hữu cơ (OM %)	3,50	3,74	3,60	3,56	3,60	3,55	2,59	2,94	2,75	2,76	2,70	2,65
N tổng số (%)	0,20	0,23	0,21	0,21	0,21	0,18	0,17	0,23	0,21	0,21	0,21	0,18
P tổng số (%)	0,16	0,22	0,20	0,20	0,20	0,18	0,08	0,12	0,10	0,11	0,10	0,10
K tổng số (%)	0,06	0,07	0,07	0,06	0,06	0,06	0,12	0,17	0,14	0,14	0,14	0,13
N dễ tiêu (mg/100g đất)	23,76	29,78	26,85	25,31	24,81	24,71	24,32	29,04	27,59	26,98	26,89	26,32
P ₂ O ₅ dễ tiêu (mg/100g đất)	7,15	8,03	7,70	7,10	7,14	6,75	7,15	8,43	7,90	7,32	7,34	7,16
K ₂ O dễ tiêu (mg/100 g đất)	9,50	12,20	11,75	11,35	10,85	9,65	9,50	12,20	11,75	11,35	10,85	9,65

Ghi chú: Trước TN: trước thí nghiệm (1/2018); Sau thí nghiệm: sau bón chế phẩm 6 tháng (10/2018).

**Phụ lục 3.2.5. SỐ LIỆU KẾT QUẢ KHẢO NGHIỆM DIỆN RỘNG CHẾ PHẨM CAFE-HTD 01 TRÊN CÂY CÀ PHÊ
GIAI ĐOẠN KINH DOANH**

Ảnh hưởng chế phẩm CAFE-HTD01 đến sinh trưởng và năng suất cây cà phê giai đoạn kinh doanh

Công thức TN	Chỉ tiêu sinh trưởng		Yếu tố cấu thành năng suất			Năng suất	
	Số cành/cây	Chiều dài cành (cm)	Số chùm quả/cành	Số quả/chùm	Tỷ lệ rụng quả (%)	Năng suất quả tươi/ha (kg)	Năng suất nhân (tấn/ha)
Địa điểm 1: Cư Dluê, xã Hoà Xuân, TP. Buôn Ma Thuột (CF_{KT1})							
CF _{KT} TN	72	51,5	11,5	28	25,0	16.500	3,940
CF _{KT} Đ/C	66	36,0	8,7	24	28,5	12.870	3,502
CV%	10,0	13,5	13,2	9,6	10,8	10,4	10,1
P	*	*	*	*	*	*	*
Địa điểm 2: xã Quảng Tiến, huyện Cư M'gar, tỉnh Đắk Lắk (CF_{KT2})							
CF _{KT} TN	74	52,5	12,2	29	25,2	16.900	3,980
CF _{KT} Đ/C	69	36,7	8,9	26	29,5	12.990	3,562
CV%	10,0	13,6	13,3	9,8	10,9	10,5	10,2
P	*	*	*	*	*	*	*

Ghi chú: P là xác suất thể hiện sự khác biệt giữa các công thức; * khác biệt tin cậy mức 95%

Ảnh hưởng chế phẩm CAFE-HTD01 đến diễn biến sâu bệnh hại trên cà phê giai đoạn kinh doanh

<i>Công thức TN</i>	<i>Tỷ lệ cây có rệp sáp sau 6 tháng (%)</i>	<i>Bệnh cây vàng lá (%)</i>	<i>Bệnh rỉ sắt (cấp)</i>	<i>Bệnh đốm mắt cua (%)</i>	<i>Bệnh khô cành (%)</i>	<i>Tỷ lệ cây bị u sưng rễ sau 6 tháng (%)</i>	<i>Số lượng tuyến trùng sau 6 tháng (con/100 g đất)</i>
Địa điểm 1: Cư Dluê, xã Hoà Xuân, TP. Buôn Ma Thuột (CF_{KT1})							
CF _{KT} TN	1,5	1,9	1	2,4	2,5	5,2	105
CF _{KTĐ/C}	17,5	7,5	3	10,5	13,6	19,4	960
CV%	15,5	5,5	1,8	7,9	8,6	13,2	14,4
<i>P</i>	*	*	*	*	*	*	*
Địa điểm 2: xã Quảng Tiến, huyện Cư M'gar, tỉnh Đắk Lắk (CF_{KT2})							
CF _{KT} TN	1,9	1,5	1,2	1,1	1,7	4,1	115
CF _{KTĐ/C}	17,8	7,6	3,2	11,2	12,9	19,7	970
CV%	15,4	7,6	5,1	12,2	14,6	13,4	14,8
<i>P</i>	*	*	*	*	*	*	*

Ghi chú: *P* là xác suất thể hiện sự khác biệt giữa các công thức; *khác biệt tin cậy mức 95%

Ảnh hưởng chế phẩm CAFE-HTD01 đến hóa tính đất trồng cà phê giai đoạn kinh doanh

Chỉ tiêu hoá tính	Địa điểm 1: Cư Dluê, xã Hoà Xuân, TP. Buôn Ma Thuột (CF _{KT1})			Địa điểm 2: xã Quảng Tiến, huyện Cư M'gar, tỉnh Đắk Lắk (CF _{KT2})		
	Trước TN	Sau thí nghiệm		Trước TN	Sau thí nghiệm	
		CF _{KT} TN	CF _{KTĐ/C}		CF _{KT} TN	CF _{KTĐ/C}
pH _{KCl}	4,84	4,98	4,87	5,1	5,12	4,95
Hữu cơ (OM %)	3,45	3,59	3,37	3,50	4,10	3,75
N tổng số (%)	0,18	0,21	0,17	0,20	0,22	0,19
P tổng số (%)	0,14	0,16	0,14	0,16	0,20	0,18
K tổng số (%)	0,07	0,07	0,06	0,06	0,07	0,06
P ₂ O ₅ dễ tiêu (mg/100g đất)	6,95	8,25	6,95	7,15	8,20	7,25
K ₂ O dễ tiêu (mg/100 g đất)	9,20	11,5	9,70	9,50	12,15	10,05

Ghi chú: Trước TN: trước thí nghiệm (1/2018); Sau thí nghiệm: sau bón chế phẩm 6 tháng (10/2018).

**Phụ lục 3.3.1. SỐ LIỆU KẾT QUẢ KHẢO NGHIỆM DIỆN HẸP CHẾ PHẨM HOTIEU-HTD 03 TRÊN CÂY HỒ TIÊU
GIAI ĐOẠN KINH DOANH**

Ảnh hưởng chế phẩm HOTIEU-HTD03 đến sinh trưởng và năng suất cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh

Công thức TN	Chỉ tiêu sinh trưởng		Yếu tố cấu thành năng suất				Năng suất		
	Đường kính tán (cm)	Số đọt/cành thứ cấp	Chiều dài gié (mm)	Số quả/gié	Tỷ lệ rụng gié (%)	Tỷ lệ hạt lép (%)	Năng suất hạt tươi (kg/trụ)	Năng suất hạt khô (kg/trụ)	Dung trọng hạt (g/l)
Địa điểm 1: xã Hoà Xuân, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk (KD 4,5 năm)									
CT_{HT1}	105	12,67	7,7	40,3	20,6	4,6	9,3	3,67	522
CT_{HT2}	93	11,00	7,0	36,0	24,6	5,2	8,5	3,34	531
CT_{HT3}	85	9,33	6,8	31,7	26,8	6,0	8,5	2,94	542
CT_{HT4}	82	8,00	6,4	27,0	30,2	6,4	8,0	3,02	520
CT_{HT5}	74	7,33	6,3	26,7	35,7	6,9	7,8	2,72	510
<i>CV%</i>	<i>10,6</i>	<i>1,8</i>	<i>9,7</i>	<i>32,6</i>	<i>6,59</i>	<i>7,4</i>	<i>6,87</i>	<i>2,96</i>	<i>15,6</i>
<i>LSD</i>	<i>21,2</i>	<i>3,76</i>	<i>ns</i>	<i>12,2</i>	<i>7,2</i>	<i>ns</i>	<i>2,25</i>	<i>1,26</i>	<i>ns</i>
Địa điểm 2: xã Hoà Xuân, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk (KD 16 năm tuổi)									
CT_{HT1}	118	8,0	6,5	36,0	22,7	4,5	13,77	5,99	553
CT_{HT2}	101	7,3	6,2	31,3	23,6	4,8	11,33	4,95	531
CT_{HT3}	96	5,5	5,5	29,0	27,2	5,4	9,83	4,29	520
CT_{HT4}	92	4,7	4,8	24,7	27,8	6,4	9,43	4,16	505
CT_{HT5}	90	4,5	4,8	22,0	29,1	7,0	7,53	3,32	495
<i>CV%</i>	<i>10,6</i>	<i>5,8</i>	<i>7,4</i>	<i>13,8</i>	<i>8,3</i>	<i>7,4</i>	<i>1,58</i>	<i>11,0</i>	<i>1,56</i>
<i>LSD</i>	<i>11,5</i>	<i>3,76</i>	<i>1,97</i>	<i>6,8</i>	<i>3,5</i>	<i>1,54</i>	<i>2,46</i>	<i>1,93</i>	<i>31,8</i>

Ghi chú: ns khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê
Ảnh hưởng chế phẩm HOTIEU-HTD03 đến diễn biến sâu bệnh hại cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh

Công thức TN	Tỷ lệ cây có rệp sáp (%)			Bệnh cây vàng lá (%)			Tỷ lệ cây bị u sưng rễ (%)		Số lượng tuyến trùng (con/100 g đất)	
	4/2018	10/2018	4/2019	4/2018	10/2018	4/2019	TTN	SXL	TTN	SXL
Địa điểm 1: xã Hoà Xuân, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk (KD 4,5 năm)										
CT _{HT1}	8,3	5,1	4,6	18,59	15,62	15,20	12,3	8,4	670	62
CT _{HT2}	8,4	6,0	5,2	18,69	16,49	15,80	13,2	8,7	700	102
CT _{HT3}	8,0	6,2	6,0	18,65	18,50	19,37	11,8	8,8	650	135
CT _{HT4}	7,8	6,6	6,0	19,42	19,26	20,50	14,1	9,2	680	660
CT _{HT5}	8,1	9,1	9,4	18,55	20,45	23,4	12,7	15,4	710	835
CV%	6,26	7,24	7,01	6,26	6,82	7,01	9,65	10,2	13,6	11,7
LSD	0,52	2,91	1,96	1,65	1,91	1,96	ns	1,02	ns	67,5
Địa điểm 2: xã Hoà Xuân, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk (KD 16 năm tuổi)										
CT _{HT1}	11,8	7,2	6,6	10,5	6,2	4,4	17,4	9,3	740	52
CT _{HT2}	12,2	7,1	6,7	10,9	6,4	5,0	19,2	10,5	780	71
CT _{HT3}	12,8	7,4	6,9	11,0	9,4	9,2	18,6	13,3	810	112
CT _{HT4}	11,4	10,6	10,1	10,5	10,4	11,6	17,8	16,1	780	280
CT _{HT5}	11,6	14,5	17,3	9,8	14,2	16,4	18,8	20,2	850	825
CV%	6,5	7,2	7,5	6,3	6,2	7,1	10,51	10,2	15,2	13,7
LSD	1,23	3,32	3,45	1,15	2,11	2,62	ns	1,02	ns	111,5

*Ghi chú: TTN: trước khi tiến hành thí nghiệm (4/2018); SXL: sau bón chế phẩm 6 tháng (10/2018).
 ns khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê*

Ảnh hưởng chế phẩm HOTIEU-HTD03 đến hóa tính đất trồng hồ tiêu giai đoạn kinh doanh

Chỉ tiêu hóa tính	Địa điểm 1: xã Hoà Xuân, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk (KD 4,5 năm)						Địa điểm 2: xã Hoà Xuân, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk (KD 16 năm tuổi)					
	Trước TN	Sau thí nghiệm					Trước TN	Sau thí nghiệm				
		CTHT1	CTHT2	CTHT3	CTHT4	CTHT5		CTHT1	CTHT2	CTHT3	CTHT4	CTHT5
pH _{KCl}	5,35	5,52	5,44	5,37	5,38	5,40	5,05	5,24	5,15	5,10	5,15	5,10
Hữu cơ (OM %)	3,05	3,12	2,95	3,10	3,0	2,90	3,10	3,15	3,10	3,10	3,0	3,0
P tổng số (%)	0,11	0,11	0,10	0,10	0,10	0,09	0,11	0,12	0,12	0,11	0,10	0,10
K tổng số (%)	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
N dễ tiêu (mg/100g đất)	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
P ₂ O ₅ dễ tiêu (mg/100g đất)	6,95	9,35	7,74	7,82	6,05	5,60	7,05	11,20	10,4	10,2	7,55	7,25
K ₂ O dễ tiêu (mg/100 g đất)	9,20	11,0	9,67	9,25	9,15	9,10	9,7	11,7	11,1	11,0	10,9	10,6

Ghi chú: Trước TN: trước thí nghiệm (4/2018); Sau thí nghiệm: sau bón chế phẩm 6 tháng (10/2018).

**Phụ lục 3.3.2. SỐ LIỆU KẾT QUẢ KHẢO NGHIỆM ĐIỆN RỘNG CHẾ PHẨM HOTIEU-HTD 03
TRÊN CÂY HỒ TIÊU GIAI ĐOẠN KINH DOANH**

Ảnh hưởng chế phẩm HOTIEU-HTD03 đến sinh trưởng và năng suất cây hồ tiêu giai đoạn kinh doanh

Công thức TN	Chỉ tiêu sinh trưởng		Yếu tố cấu thành năng suất			Năng suất			
	Đường kính tán (cm)	Số đốt/cành thứ cấp	Chiều dài gié (mm)	Số quả/gié	Tỷ lệ rụng gié (%)	Tỷ lệ hạt lếp (%)	Năng suất hạt tươi (kg/trụ)	Năng suất hạt khô (kg/trụ)	Dung trọng hạt (g/l)
Địa điểm 1: Cư Dluê, xã Hoà Xuân, TP. Buôn Ma Thuột (CF_{KT1})									
HT _{KD} TN	112	7,5	6,6	32.5	22,8	5,2	8,3	3,45	535