

PHẦN 1

MỞ ĐẦU

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong xu thế phát triển của nền nông nghiệp thế giới, những năm gần đây nền nông nghiệp nước ta đã đạt được những thành tựu to lớn. Sản xuất gạo không những đáp ứng đủ nhu cầu trong nước mà còn xuất khẩu đến các nước lớn trên thế giới như Mỹ. Ngoài cây lương thực, cây công nghiệp, các cây thực phẩm cũng phát triển mạnh mẽ trong sản xuất. Song sản xuất nông nghiệp cũng gặp không ít khó khăn như thời tiết bất lợi, dịch hại do sâu bệnh, cỏ dại, chuột, ốc bươu vàng..., đã làm giảm năng suất và phẩm chất nông sản. Theo thống kê của FAO (1984) hàng năm bệnh hại cây trồng không những làm giảm năng suất, phẩm chất cây trồng mà còn làm tăng chi phí sản xuất. Bởi vậy để bảo vệ sản xuất, chúng ta phải áp dụng hàng loạt các biện pháp như canh tác, cơ giới vật lý..., đặc biệt biện pháp hiện đang được sử dụng phổ biến trong sản xuất nông nghiệp là biện pháp hoá học đã gây ra hàng loạt vấn đề ảnh hưởng tới môi sinh, môi trường như ô nhiễm nguồn nước, đất, dư lượng vượt quá ngưỡng cho phép. Vì vậy tìm kiếm biện pháp phòng trừ bệnh hại tối ưu là một trong những hướng đi đúng đắn và cần thiết cho một nền nông nghiệp sạch và bền vững.

Một số cây thực phẩm trồng trên cạn như cây cà chua, cây dưa chuột, cây đậu tương... là những cây có giá trị dinh dưỡng cao, đem lại hiệu quả kinh tế. Nhưng hàng năm cây thực phẩm thường bị nhiều loại

bệnh gây hại làm tổn thất khá nặng nề trong sản xuất do vậy việc nghiên cứu các bệnh hại cây thực phẩm để tìm ra các biện pháp phòng trừ bệnh có hiệu quả là rất cần thiết.

Một nhóm bệnh hại cây trồng nguy hiểm trong sản xuất là nhóm nấm có nguồn gốc trong đất như: *Fusarium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Phythium*, *Sclerotium*.... Nhóm nấm này có phổ ký chủ rộng, gây hại trên nhiều loại cây trồng khác nhau như: Đậu đỗ, cây họ cà, họ bầu bí và gây ra nhiều triệu chứng khác nhau như: Lở cổ rễ, héo rũ gốc mốc trắng, thối thân khi bệnh nặng cây ký chủ bị chết rất nhanh. Đặc biệt là nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo vàng làm cây chết nhanh.

Nguồn bệnh các loài nấm trên thường bảo tồn chủ yếu là dạng hạch nấm, sợi nấm và hậu bào tử ở trong đất và trong tàn dư cây bệnh, khả năng bảo tồn chủ yếu là dạng hạch nấm, khả năng bảo tồn của hạch nấm cũng như của sợi nấm tùy thuộc vào điều kiện môi trường và tùy từng loài nấm khác nhau.

Ở nước ta kết quả nghiên cứu về đặc điểm sinh học, sinh thái, khả năng tấn công, xâm nhiễm của các loài nấm gây bệnh có nguồn gốc trong đất còn chưa nhiều, điển hình là nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo vàng trên một số cây trồng cạn. Để góp phần làm sáng tỏ những vấn đề trên và tìm ra biện pháp phòng trừ có hiệu quả cao, đặc biệt là biện pháp phòng trừ sinh học vừa có tác dụng hạn chế được tác hại của bệnh, vừa hạn chế được tác hại của thuốc hoá học bảo vệ thực vật gây ra, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài:

“Nghiên cứu bệnh héo vàng (*Fusarium oxysporum*) hại một số cây trồng cạn vụ hè thu năm 2007 tại vùng Gia Lâm - Hà Nội và thử nghiệm chế phẩm sinh học phòng trừ bệnh.”

II. MỤC ĐÍCH YÊU CẦU

1. Mục đích

- Điều tra bệnh héo vàng (*Fusarium oxysporum*) hại một số cây trồng cạn vụ hè thu năm 2007 ở vùng Gia Lâm – Hà Nội.

- Tìm hiểu ảnh hưởng của một số yếu tố liên quan tới sự phát triển của bệnh héo vàng (*Fusarium oxysporum*) trên đồng ruộng.

- Sử dụng thuốc hoá học và chế phẩm sinh học nấm đối kháng *Trichoderma viride* để phòng chống bệnh héo vàng (*Fusarium oxysporum*).

2. Yêu cầu

- Mô tả, nhận xét triệu chứng và chụp ảnh bệnh héo vàng (*Fusarium oxysporum*).

- Theo dõi sự phát sinh, phát triển và đánh giá mức độ thiệt hại của bệnh héo vàng (*Fusarium oxysporum*)

- Xác định nguyên nhân gây bệnh và các đặc điểm hình thái sinh học của nấm gây bệnh *Fusarium oxysporum* (nhiệt độ, pH môi trường ,...)

- Tìm hiểu ảnh hưởng của một số yếu tố tới sự phát triển của bệnh héo vàng (*Fusarium oxysporum*) trên đồng ruộng (giống, thời vụ, chân đất, luân canh, mật độ trồng).

- Thí nghiệm lây bệnh nhân tạo trên cây trồng trong điều kiện bán đồng ruộng để xác định mức độ gây bệnh của nấm *Fusarium oxysporum*, xác định thời kỳ tiềm dục của bệnh.

- Khảo sát hiệu lực của chế phẩm sinh học nấm đối kháng *Trichoderma viride* trong phòng thí nghiệm và ngoài đồng ruộng.

III. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU NGOÀI NƯỚC VÀ TRONG NƯỚC

1. Tình hình nghiên cứu nấm *Fusarium oxysporum* ngoài nước

Bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra là một trong những bệnh nguy hiểm gây thiệt hại lớn ở nhiều nước châu Âu, châu Á, châu Mỹ và châu Đại Dương. Bệnh thường thấy nhiều ở thời vụ có thời tiết nóng, nhiệt độ trong vụ trồng cà chua trên 25°C. Ở những nước có nhiệt độ mát mẻ thường thấy bệnh trong nhà kính. Theo Binder và Hutchinson (1959) cà chua bị bệnh héo vàng do nấm *Fusarium* sẽ chết nhanh và thiệt hại lớn khi cùng bị tuyến trùng (*Meloidogine incognita*) xâm nhập vì tuyến trùng làm giảm tính chống bệnh của cà chua đối với nấm *Fusarium*.

Các loài nấm *Fusarium* sp đã được nghiên cứu từ khoảng đầu thế kỷ XIX. Đến nay đã có rất nhiều công trình nghiên cứu về nấm *Fusarium*

đã được công bố và có ý nghĩa lớn trong sự phát triển của khoa học kỹ thuật. Nấm *Fusarium* thuộc lớp *Hyphomycetes.*, nhóm nấm bất toàn *Fungi imperfecti*, đây là loại nấm có thành phần rất phong phú và đa dạng, trong đó sự biến động của một số loài phụ thuộc cơ bản vào đặc điểm khí hậu ở các vùng khác nhau trên thế giới. Loài nấm này gây hại nhiều loại cây trồng trên tất cả các bộ phận đặc biệt bộ phận gốc, rễ của cây.

Bệnh héo vàng cà chua được mô tả đầu tiên do Masee. G. E. ở Anh năm 1895, đây là bệnh hại quan trọng trên cây cà chua ở ít nhất là 32 nước trên thế giới. Ở phía nam nước Mỹ bệnh này đã gây hại nghiêm trọng trên đồng ruộng (Jone, J.P.,1993).

Chu kỳ sinh trưởng của nấm bao gồm nhiều giai đoạn khác nhau, trong quá trình phát tán bào tử nấm có mặt trong không khí và trong thời gian giữa các thời vụ. Kết quả điều tra thành phần loài nấm *Fusarium* vùng Queensland Australia với 3 loài nấm *Fusarium moniliforme*, *Fusarium serif* và *Fusarium semitectum*, loài nấm *Fusarium oxysporum* xuất hiện ở hầu hết các mẫu phân lập (Burgess and Summerell,1992).

Theo Burgess và cộng sự (1994), các loài nấm *Fusarium* xuất hiện ở hầu hết các vùng đó là loài nấm *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani*, *Fusarium tricinetum*, các loài nấm khác như *Fusarium subglutinans*, *Fusarium porotichisides*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium evenacerum*, *Fusarium acuninatum* thường thấy xuất hiện ở vùng ôn đới. Theo Martuy (1984) cho biết, bệnh héo vàng cây dưa tây do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra được mô tả đầu tiên ở Mỹ. Nấm *Fusarium vasinfectum* gây bệnh héo vàng cây bông, là bệnh héo vàng đầu tiên được công bố có phạm vi rất rộng. Vùng đông nam nước Mỹ, đồng

bằng châu thổ sông Nile, phía đông và nam hồ Victoria của Tanzania và một số vùng khác thuộc Ấn Độ.

Theo N.S.Smith, O. L.Ebbels, R.H. Garber và A.J. Kappelmen (1981), Kelman và Cock (1981) đều công bố rằng bệnh này gây hại lớn đối với các vùng trồng bông ở Trung Quốc. Như vậy nấm *Fusarium oxysporum* có phạm vi ký chủ rất rộng lớn và tồn tại nhiều dạng khác nhau trong đất. Mặt khác, thành phần và sự phân bố của nấm *Fusarium oxysporum* trong đất có liên quan chặt chẽ với sự xuất hiện và mức độ gây hại trên cây ở mỗi vùng sinh thái khác nhau.

Nấm *Fusarium equiseti* gây bệnh thối bầu bí khi quả tiếp xúc với đất (Burgess et al, 1988). Nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh thối nõn ngô (Nelson et al, 1988) và gây thối nõn dứa (Bolkan et al, 1974). Cũng theo Burgess và các cộng sự (1998) nấm *Fusarium oxysporum* là tác nhân gây bệnh héo và thối rễ, thân, mầm cây. Theo Binder và Hutchison (1959) cà chua bị bệnh sẽ bị chết nhanh hơn và thiệt hại nhanh hơn khi cùng bị tuyến trùng (*Meloidogin incognita*) xâm nhập vì tuyến trùng đã làm giảm khả năng chống bệnh của cây gây ra bệnh thối rễ và lở cổ rễ ở cây bí ngô là do nấm. Ngoài ra, theo R.H.Stover ở vùng nhiệt đới loài nấm *Fusarium oxysporum* còn gây hại trên nhiều ký chủ khác nhau như thuốc lá, cà chua, khoai lang, khoai tây, cây hoa huệ.... Đây là những bệnh có tác hại kinh tế lớn trong sản xuất.

Nấm *Fusarium oxysporum* có dạng bào tử lớn trong suốt, có nhiều vách ngăn, bào tử hình trứng khuyết, một đầu thắt lại hình bàn chân. Dạng bào tử nhỏ, đơn hoặc đa bào hình cầu hoặc hình bầu dục. Một số loài *Fusarium oxysporum* có bào tử nhỏ, bào tử hậu và quả thể hoặc không có

bào tử hậu. C.Booth năm 1977 -1979 đã chú ý vào bản chất tế bào phân sinh mà từ đó sinh ra bào tử nhỏ, là một trong những chỉ tiêu đầu tiên để phân loại nấm trên cơ sở đó ông cho rằng nấm *Fusarium oxysporum* có số lượng 90 loài. Gần đây Burgess và cộng sự (1993) đã đưa ra cơ sở phân loại nấm *Fusarium oxysporum* gồm 7 chỉ tiêu như sau:

- 1) Hình thành bào tử lớn.
- 2) Hình thành bào tử nhỏ.
- 3) Hình dạng và kiểu bào tử nhỏ.
- 4) Kích thước của bào tử nhỏ.
- 5) Sự có mặt hay không có mặt của bào tử hậu trên môi trường PGA.
- 6) Đường kính tản nấm trên môi trường PGA.
- 7) Hình thái tản nấm.

Nấm *Fusarium oxysporum* ban đầu gồm hơn 100 loài được mô tả dựa trên kiểm nghiệm về cấu trúc của ổ sinh bào tử lớn là thực vật. Theo phân loại của Wellenpeper Reikinh (1935), số loài giảm xuống còn 65 loài, 55 giống và 22 dạng. Bằng phương pháp cấy truyền đơn bào tử dùng trong hệ thống phân loại của Snyder và Hanser đã bổ sung về sự giống và khác nhau giữa các loài *Fusarium oxysporum*, Snyder và Hanser đã đề nghị giảm số lượng xuống còn 9 loài.

Theo Burgess (1983 – 1985) khi nghiên cứu về độc tố của nấm *Fusarium oxysporum* cho thấy chỉ có một số ít loài nấm có khả năng gây độc như *Fusarium compactum* là loại nấm hoại sinh nhưng sản sinh ra hàm lượng độc tố cao thuộc nhóm *Trichothecene* (Wing et al, 1993). Hay như loài nấm *Fusarium proliferatum* cũng sinh ra độc tố nhóm *Fumonisin*

gây bệnh chảy máu bán cầu đại não ở gia súc (Ross et al, 1990). Ngoài ra loài *Fusarium proliferiforme* tiết ra độc tố có thể gây ung thư thực quản ở người (theo Mazasass, 1972).

Theo Armstrong (1952), 4 chủng nấm *Fusarium oxysporum f.sp. conglutinan* cũng gây hại trên họ hoa thập tự, nhưng ở mức độ khác nhau.

1) Chủng 1: Gây hại ở hầu hết các loài hoa thập tự, đặc biệt hay gặp trên su hào, cải bắp, súp lơ.

2) Chủng 2: Gây hại trên củ hành.

3) Chủng 3: Gây hại ở cây cải củ California.

4) Chủng 4: Chỉ gây hại ở cải củ New York.

Ở Úc nấm *Fusarium oxysporum* có 3 chủng (race) sinh lý:

1) Chủng 1: Phổ biến ở các vùng của Queensland.

2) Chủng 2: Chỉ có ở vùng Bowen.

3) Chủng 3: Phân bố rộng ở Bowen và ở Bermett (O Bien R.G và CTV, 1994).

Theo Finley (1950) nấm có hai dạng sinh học phân biệt dễ dàng trên môi trường nhân tạo và có tính gây bệnh khác nhau. Dạng I không gây bệnh cho cây cà chua có gen kháng bệnh bắt nguồn từ cà chua dại (*Lycopersicon pimpinellifolium*) mà chỉ gây bệnh cho các giống khác. Dạng II có thể gây bệnh cho cả hai nhóm trên. Martin Duckes (1966) đã xác định được sự sai khác về phản ứng huyết thanh của hai dạng sinh học này, Cirlli (1965 – 1966) đã phát hiện hai dạng này ở Ý.

Đặc điểm sinh học của nấm *Fusarium oxysporum* rất rõ rệt, sợi nấm phát triển mạnh, màu sắc biến đổi từ màu trắng đến màu tím violet, tản nấm thường sinh sắc tố màu hồng đến màu tím đậm trên môi trường

PDA. Bào tử lớn hình thành trên môi trường PDA có kích thước ngắn trung bình hoặc dài, phần lớn có 3 vách ngăn mỏng, một đầu nhọn hoặc thon nhọn, một đầu hình bàn chân, bào tử nhỏ hình thành trên cành bào tử phân sinh đơn nhánh ngắn thường không có ngăn ngang, đôi khi có một ngăn. Hình dạng bào tử thay đổi từ hình ovan, hình elip hoặc hình quả thận. Hậu bào tử thường hình thành hầu hết trên các mẫu phân lập sau 3 – 6 tuần nuôi cấy trên bề mặt thạch của môi trường PGA (Burgess W.L. Summerell, Sazanne, Bullock, Gott, Backhouse, 1994).

Theo Kavachich, sợi nấm và hậu bào tử chỉ xuất hiện trong bó mạch xylem mà không hình thành ngoài bó mạch, sau khi xâm nhiễm gây bệnh nấm làm cho bó mạch bị chuyển sang màu nâu xám hoặc nâu đen, lá cây bị héo do độc tố nấm tiết ra làm tắc bó mạch, dẫn đến mất chức năng quang hợp và cây bị chết (Bachy, 1981).

Nấm *Fusarium oxysporum* là loài nấm tồn tại chủ yếu trong đất, xâm nhiễm gây bệnh vào bên trong bó mạch, chủ yếu thông qua bộ rễ do rễ làm nhiệm vụ hút nước và chất dinh dưỡng nên nấm cũng theo con đường đó mà xâm nhập vào cây cho nên rất khó khăn cho việc phòng trừ bằng thuốc hoá học. Mặc dù ngày nay người ta đã tìm ra được rất nhiều dạng các loại thuốc trừ nấm nhưng chưa có thuốc đặc trị đối với loại nấm này. Biện pháp phòng bệnh là một biện pháp mang lại hiệu quả cao nhất như xử lý giống trước khi gieo trồng. Việc nghiên cứu tạo giống chống bệnh kết hợp với việc sử dụng các biện pháp canh tác hợp lý, có ý nghĩa lớn trong việc hạn chế tác hại của bệnh, Một nhóm các nhà khoa học người Mỹ nghiên cứu gen kháng bệnh do nấm *Fusarium oxysporum f. sp. Niveccum* trên cây dưa hấu đã cho kết quả rất khả quan.

Theo N.S.Smith, O.L.Ebbels, R.H. Garber và A.J Kappelmen (1981), Kelman và Cock (1981) cũng đều cho rằng bệnh này gây hại lớn đối với các vùng trồng bông ở Trung Quốc.

Trong quá trình nghiên cứu bệnh trên cây bông, các nhà khoa học đã phát hiện thấy giống Ghisutum có khả năng chống bệnh héo do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra. Tính kháng bệnh của gen này được quy định bởi một gen trội khi lai giữa hai giống Coker 100 Ga và Half cho thấy các giống bông nhiễm bệnh héo do nấm *Fusarium oxysporum* ở thế hệ F₂ và F₃ (Smith and Drick, 1960). Khi nghiên cứu hiện tượng kháng, chịu thuốc hoá học, một số tài liệu đã khẳng định rằng nấm *Fusarium vorcum* biến chủng *Sambicicum* có khả năng chống chịu với thuốc Thiazendogon (B. Tivoli, A. Cletour, O. Metet, 1986). Ngoài việc tạo ra các giống có khả năng chống bệnh thì kỹ thuật thâm canh cũng đem lại hiệu quả cao như bón phân hợp lý, thay đổi pH đất làm giảm khả năng tồn tại các nguồn bệnh trong đất do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra.

2. Tình hình nghiên cứu nấm *Fusarium oxysporum* trong nước

Ở nước ta nấm *Fusarium oxysporum* đã được đề cập nghiên cứu từ lâu nhưng vẫn chưa đem lại hiệu quả thực tiễn. Nấm *Fusarium oxysporum* được cho là nguyên nhân gây bệnh héo vàng trên cà chua, khoai tây (Vũ Triệu Mân, 1987). Đến nay đã có rất nhiều đề tài nghiên cứu về loài nấm này được biểu hiện triệu chứng như héo bó mạch, thối gốc củ quả.

Nước ta có khí hậu nhiệt đới gió mùa nóng ẩm, mưa nhiều rất thuận lợi cho nấm *Fusarium oxysporum* có điều kiện phát triển gây hại. Năm

1943 Bugricourt đã nghiên cứu bệnh lúa von do nấm *Fusarium moniliforme* Sheld gây hại ở đồng bằng sông Hồng.

Theo Nguyễn Thị Khôi (1984) bệnh thối khô củ khoai tây do nấm *Fusarium solani*, *Fusarium sambicicum*. Trong những năm gần đây việc nghiên cứu về nấm *Fusarium oxysporum* đã được mở rộng như bệnh chết khô thân và bó cờ ngô do nấm *Fusarium moniliforme* (Nguyễn Đức Trí, 1992). Bệnh thối khô quả đậu đen, bệnh vết xám cành cam quýt do nấm *Fusarium semitatum* Berk (Burgess – Nguyễn Đức Trí, 1993). Năm 1994 Nguyễn Đức Trí đã xác định một số loài nấm *Fusarium* gây triệu chứng thối đen lá ngô như nấm *Fusarium subglutinans*, đen ngọn lá, khô gốc cây hồi do nấm *Fusarium oxysporum* Sehecht. Bệnh thối xám thân nho do nấm *Fusarium solani* Appel. Bệnh thối gốc hành tây do nấm *Fusarium solani* Appel. Bệnh tách đôi quả táo cũng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra (Burgess – Nguyễn Đức Trí, 1994).

Theo Nguyễn Văn Viên (1997) cho biết vụ đông xuân 1994 ở Tiên Dương - Đông Anh tỷ lệ cây nhiễm bệnh héo vàng trung bình 4,0%, cà chua trồng trên đất vàn tỷ lệ cây nhiễm bệnh là 5,8%, ở chân đất cao tỷ lệ cây nhiễm bệnh là 2,2%. Trên môi trường PDA thuốc Benlate 0,1% có tác dụng ức chế sự phát triển của tảo nấm *Fusarium oxysporum*.

Bệnh héo vàng cà chua đã gây ra những thiệt hại đáng kể ở một số cơ sở trồng cà chua vùng Hà Nội (Nguyễn Kim Vân, 1998). Nguyễn Thị Khôi và Lê Văn Hưng (1986) cho rằng việc xử lý giống bằng thuốc Fudazol và thuốc kháng sinh có triển vọng tốt để hạn chế bệnh thối củ khoai tây. Những thí nghiệm tại trạm giống Yên Khê – Gia Lâm – Hà Nội của Nguyễn Đức Trí và Đỗ Tấn Dũng đã cho thấy việc sử dụng hỗn hợp

Benlate + kháng sinh và thuốc Bi58 làm giảm tỷ lệ thối củ khoai tây và làm giảm sự phá hoại của nhện, rệp hại củ khoai tây.

Tháng 11/1995 Burgess cùng một nhóm các nhà nghiên cứu bệnh cây Việt Nam đã phát hiện ra hai loại vi sinh vật cùng đồng thời có mặt trong bó mạch cây cà chua là *Fusarium oxysporum* và vi khuẩn *Pseudomonas solanacearum*. Các nhà khoa học đã đưa ra giả thiết rằng cả hai loài vi sinh vật này cùng đồng thời gây ra triệu chứng héo trên cây. Burges đã phân lập và giám định sự có mặt của *Fusarium oxysporum* trên đất trồng ngô trường Đại học Nông nghiệp I – Hà Nội và đất cỏ tại Viện nghiên cứu ngô trung ương.

Mặc dù các công trình nghiên cứu đã đạt được về loài nấm *Fusarium oxysporum* ở nước ta chưa nhiều, chưa đại diện, còn hạn chế song đó lại là tiền đề cho việc nghiên cứu đặc tính sinh vật học của nấm *Fusarium oxysporum* cũng như những nghiên cứu về loại nấm này đã và đang được chú trọng ở Việt Nam.

PHẦN 2

VẬT LIỆU - NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

I. ĐIỀU KIỆN NGHIÊN CỨU

1. Địa điểm nghiên cứu

Đề tài của chúng tôi được thực hiện ở các cơ sở sau

- Phòng nghiên cứu nấm khuẩn – Bộ môn Bệnh cây – Nông dươc –
Khoa Nông học – Trường Đại học Nông nghiệp I – Gia Lâm - Hà Nội.

- Trung tâm nghiên cứu sức khỏe cây trồng vật nuôi - Trường Đại
học Nông nghiệp I – Gia Lâm – Hà Nội

- Một số xã thuộc huyện Gia Lâm – Hà Nội.

- Thời gian thực tập từ ngày 10/7/2007 – 30/12/2007.

- Cây trồng nghiên cứu là một số cây trồng cạn như cà chua, đậu
đỗ... vụ hè thu năm 2007 ở vùng Gia Lâm – Hà Nội

2. Đối tượng nghiên cứu

Bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum*.

II. VẬT LIỆU

1. Các dụng cụ cần thiết trong phòng thí nghiệm

- Tủ định ôn

- Nồi hấp

- Tủ lạnh
- Bông cấy nấm
- Kính hiển vi chụp ảnh
- Giá nuôi cấy nấm
- Cân điện tử
- Bình bơm, nồi hấp, xoong
- Các dụng cụ nhỏ: cân kỹ thuật, bình đựng mức, bình tam giác, đĩa thuỷ tinh, bếp điện, vải màn lọc, hộp lồng Petri, que cấy nấm, đèn cồn, khay đựng, bông, dao, kéo, panh, chậu nhựa, kính hiển vi, kính lúp...

2. Môi trường hoá chất dùng để nuôi cấy và phân lập nấm

2.1. Môi trường WA (Water Agar medium)

Thành phần môi trường: - Nước cất : 1000 ml
- Agar : 20g

Phương pháp điều chế: Thạch được hoà tan trong nước đun sôi và hấp vô trùng trong điều kiện 121°C (1,5atm) trong thời gian 45 phút. Môi trường sau khi hấp xong để nguội dần khoảng 60°C rồi đổ vào các đĩa petri 5ml/đĩa (đĩa có đường kính 90mm) với lượng môi trường này thao tác cấy một bào tử sẽ dễ dàng hơn. Môi trường này dùng để phân lập nấm ban đầu, ít bị lẫn tạp do nghèo dinh dưỡng và để nuôi cấy đơn bào tử.

2.2. Môi trường PGA (Potato – Glucose – Agar)

Đây là môi trường giàu dinh dưỡng dùng để nuôi cấy làm thuần nấm để quan sát các đặc điểm hình thái, màu sắc, đo kích thước sợi nấm, sắc tố tản nấm sinh ra trên môi trường là các chỉ tiêu để phân loại nấm.

Thành phần môi trường: - Khoai tây : 200g
- Agar : 20g

- Đường Glucose : 20g
- Nước cất : 1lit (1000ml)

Phương pháp điều chế: Chọn những củ khoai tây không bị bệnh, còn nguyên vẹn, gọt sạch vỏ, cắt thành từng miếng nhỏ. Cho khoai tây trên vào nước cất với liều lượng đã định sẵn, đun sôi 15 – 20 phút, sau đó lọc sạch bằng vải màn, bỏ bã khoai tây, chỉ lấy dịch trong, bổ sung thêm nước cất cho đủ liều lượng rồi đun sôi trở lại dịch khoai tây. Tiếp đó cho đường glucose và agar đã cân đủ lượng vào, khuấy đều cho tan hết. Sau đó cho vào bình tam giác, phủ giấy bạc rồi khử trùng trong nồi hấp ở điều kiện 121⁰C (1,5atm) trong thời gian 45 phút. Sau khi hấp xong lấy ra để nguội môi trường đến nhiệt độ 60⁰C (để tránh tạp khuẩn, cho thêm thuốc kháng sinh Penicillin hoặc Steptomycin với liều lượng 10mg/100ml môi trường). Sau đó lắc đều rồi đổ ra các đĩa Petri (đã được khử trùng và sấy khô từ trước). Lượng môi trường từ 10 – 15ml/đĩa Petri. Sau khi môi trường đông cứng có thể tiến hành phân lập và nuôi cấy nấm.

2.3. Môi trường PPA (Pepton PCNB Agar medium)

Đây là môi trường được sử dụng để phân lập nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh từ mô cây. Trong thành phần môi trường có 2 chất kháng sinh là Steptomycin sulfate và Neomycin sulfate có tác dụng hạn chế sự phát triển của vi khuẩn trên môi trường.

Thành phần môi trường :

- Peptone : 15g
- Agar : 20g
- KH₂PO₄ : 1g
- MgSO₄.7H₂O : 0,5g

- Steptomycin sulfate : 1g
- Tetrachlor : 1g
- Neomycin sulfate : 0,12g
- Nước cất : 1lit (1000ml)

Phương pháp điều chế: Dung dịch agar, peptone, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Tetrachlor trong 100ml nước đun sôi, khuấy cho tan đều, sau đó hấp vô trùng, tương tự môi trường PGA. Sau khi hấp xong để nguội tới 55°C , cho tiếp vào môi trường Steptomycin sulfate và Neomycin sulfate theo lượng đã định sẵn, lắc đều rồi đổ vào các đĩa Petri (đã được khử trùng và làm khô). Để đông cứng khô bề mặt và sử dụng cho việc phân lập nấm.

2.4. Môi trường CLA (Carnation Leaf piece Agar medium)

Thành phần môi trường:

- Agar : 20g
- Carnation Leaf piece (mẫu hay mảnh lá cẩm chướng) : 4 – 5 mẫu
- Nước cất : 1lit (1000ml)

Phương pháp điều chế: Lá cẩm chướng được lấy từ cây cẩm chướng sạch bệnh, cắt thành từng mẫu 5 – 8mm và sấy ở nhiệt độ 30°C trong 3 – 9 giờ (đến khi khô giòn). Những mẫu lá này sau khi sấy được đựng trong hộp nhựa, xử lý khử trùng bằng tia gamma (2,5 megarads), sau đó được bảo quản trong điều kiện lạnh $2 - 5^\circ\text{C}$ trước khi sử dụng. Dung dịch thạch 2% sau đó được khử trùng trong điều kiện nhiệt độ 121°C (1,5atm) thời gian 45 phút. Môi trường được khử trùng để nguội dần đến $60 - 70^\circ\text{C}$

rồi đổ ra các đĩa petri nhỏ (đường kính 6cm) đã có chứa sẵn 5 – 6 mẫu lá cắm chướng, bố trí mỗi đĩa sao cho lá cắm chướng dồn vào xung quanh đĩa và nổi lên trên bề mặt thạch. Do trên môi trường CLA, bào tử lớn có hình dạng đồng đều hơn trên môi trường PGA và hầu hết bào tử được hình thành trên lá cắm chướng. Kích thước, hình dạng bào tử lớn hình thành trên lá cắm chướng đồng đều hơn trên bề mặt thạch. Môi trường CLA còn dùng để nuôi cấy nấm, sản xuất nguồn bào tử cho việc cấy đơn bào tử để tiến hành các thí nghiệm lây bệnh nhân tạo.

2.5. Môi trường thô (trấu cám)

Công dụng: Dùng nhân nấm để lây bệnh nhân tạo.

Thành phần môi trường: - Trấu cám :40g

- Nước cất vô trùng : 24ml

Phương pháp điều chế : Tiến hành cân trấu, cám sau đó trộn đều vào nhau, cho đủ lượng nước cất, đựng vào túi nilong sau đó đem hấp 2 lần ở điều kiện 121°C (1,5atm) trong thời gian 45 phút. Hấp xong để nguội cấy nấm vào môi trường cộng với 6ml nước cất vô trùng cho 25g môi trường. Để môi trường đã cấy nấm ở điều kiện nhiệt độ 25°C cho đến khi hình thành nhiều bào tử rồi đếm lây bệnh nhân tạo.

3. Các thuốc trừ nấm trong thí nghiệm

- 1) Daconil 72 WP
- 2) Zineb 80 WP
- 3) Topsin M75 WP
- 4) Ricide 72 WP

III. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Các thí nghiệm ngoài đồng

1.1. Ảnh hưởng của giống cà chua khác nhau tới bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra.

- 1) Công thức 1: Giống Nhật HP5
- 2) Công thức 2: Giống Ba Lan trắng
- 3) Công thức 3: Giống Mỹ VL2200

1.2. Thí nghiệm ảnh hưởng của mật độ trồng đến bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra.

Thí nghiệm được tiến hành với 3 công thức:

- 1) Công thức 1: Trồng dày (mật độ 3.5 – 4.5 cây/m²)
- 2) Công thức 2: Trồng trung bình (mật độ 3.5 cây/m²)
- 3) Công thức 3: Trồng thưa (mật độ 1.5 – 2 cây/m²)

Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần trên giống cà chua Balan trắng, trồng tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội. Diện tích 1 ô thí nghiệm (1 lần nhắc lại) bằng 30 m².

1.3. Điều tra ảnh hưởng của chân đất khác nhau tới bệnh héo vàng đậu tương do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra.

Thí nghiệm được tiến hành với 2 công thức:

- 1) Công thức 1: Trên chân đất cao
- 2) Công thức 2: Trên chân đất trũng

Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần trên giống đậu tương DT 84, trồng tại xã Phú Thụy - Gia Lâm – Hà Nội. Diện tích 1 ô thí nghiệm (1 lần nhắc lại) bằng 30 m².

1.4. Thí nghiệm ảnh hưởng của việc luân canh đến bệnh héo vàng cà

chua do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra.

Thí nghiệm được tiến hành với 3 công thức:

- 1) Công thức 1: Lúa - cà chua - lúa
- 2) Công thức 2: Lúa - hành ta – cà chua
- 3) Công thức 3: Lúa – cà tím – cà chua

Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần trên cây cà chua, trồng tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội. Diện tích 1 ô thí nghiệm (1 lần nhắc lại) bằng 30 m².

1.5. Thí nghiệm thử hiệu lực của thuốc hoá học đến bệnh héo vàng cà chua do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra.

Thí nghiệm được tiến hành với 4 công thức:

- 1) Công thức 1: Ridomil MZ 71WP nồng độ 0.1%
- 2) Công thức 2: Rovral 50WP nồng độ 0.1%
- 3) Công thức 3: Tilt super nồng độ 0.1%
- 4) Công thức 4: Đối chứng

Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần trên giống cà chua Nhật HP5, trồng tại xã Dương Xá - Gia Lâm – Hà Nội. Diện tích 1 ô thí nghiệm (1 lần nhắc lại) bằng 30 m².

Cà chua trồng ngày 2/8/2007, thời gian điều tra từ ngày 23/9/2007 (Các TN 1-5: Mỗi công thức thí nghiệm có 3 lần nhắc lại. Diện tích mỗi lần nhắc lại là 30m². Bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ (RCBD)).

1.6. Thí nghiệm thử hiệu lực của nấm đối kháng *Trichoderma viride* đối với bệnh héo vàng cà chua do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra.

1.6.1. Thí nghiệm so sánh hiệu quả phòng trừ của chế phẩm nấm đối kháng *Trichoderma viride* và thuốc hóa học.

Thí nghiệm được tiến hành với 4 công thức:

1) Công thức 1: (Đối chứng). Chỉ xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum* khi cây 2 lá mầm.

2) Công thức 2: Xử lý *Trichoderma viride* vào đất trước khi trồng 10 ngày. Khi cây có 2 lá mầm xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum*.

3) Công thức 3: Xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum* khi cây có 2 lá mầm, khi cây có 3 lá thật phun thuốc Rovral 50 WP nồng độ 0.1%.

4) Công thức 4: Xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum* khi cây có 2 lá mầm, khi cây có 3 lá thật phun *Trichoderma viride*.

Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần trên giống cà chua Mỹ VL2200, trồng tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội. Diện tích 1 ô thí nghiệm (1 lần nhắc lại) bằng 30 m².

1.6.2. Thí nghiệm tìm hiểu liều lượng chế phẩm *Trichoderma viride* xử lý đất trước khi trồng cà chua. (Chế phẩm có 10⁸ – 10⁹ bào tử *T.viride*/1g chế phẩm).

Thí nghiệm được tiến hành với 4 công thức:

1) Công thức 1: (Đối chứng), chỉ xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum* khi cây có 2 lá mầm.

2) Công thức 2: Xử lý *Trichoderma viride* (1g/1000g phân chuồng) trước khi gieo. Khi cây có 2 lá mầm xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum*.

3) Công thức 3: Xử lý *Trichoderma viride* (3g/1000g phân chuồng) trước khi gieo. Khi cây có 2 lá mầm xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum*.

4) Công thức 4: Xử lý *Trichoderma viride* (5g/1000g phân chuồng) trước khi gieo. Khi cây có 2 lá mầm xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum*.

Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần trên giống cà chua Ba Lan trắng, trồng tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội. Diện tích 1 ô thí nghiệm (1 lần nhắc lại) bằng 30 m²

1.7. Thí nghiệm trong chậu, vại.

1.7.1. Ảnh hưởng của thời gian xử lý chế phẩm nấm *Trichoderma viride* vào đất phòng chống bệnh héo vàng.

Thí nghiệm được tiến hành với 5 công thức:

1) Công thức 1: (Đối chứng), xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum*.

2) Công thức 2: Xử lý nấm *Trichoderma viride* vào đất rồi gieo hạt ngay.

3) Công thức 3: Xử lý nấm *Trichoderma viride* vào đất sau 3 ngày gieo hạt.

4) Công thức 4: Xử lý nấm *Trichoderma viride* vào đất sau 5 ngày gieo hạt.

5) Công thức 5: Xử lý nấm *Trichoderma viride* vào đất sau 10 ngày gieo hạt.

Thí nghiệm được tiến hành trên giống đậu tương DT84

1.7.2. Hiệu quả phòng trừ của nấm đối kháng *Trichoderma viride* đối với bệnh héo vàng trong nhà lưới.

Thí nghiệm được tiến hành với 6 công thức:

1) Công thức 1: (Đối chứng) không xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum*.

2) Công thức 2: Xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum*.

3) Công thức 3: Xử lý nấm bệnh *Trichoderma viride*.

4) Công thức 4: Xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum* trước 24h, sau đó xử lý *Trichoderma viride*

5) Công thức 5: Xử lý *Trichoderma viride* trước 24h, sau đó xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum*.

6) Công thức 6: Xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum* và *Trichoderma viride* đồng thời.

Thí nghiệm được tiến hành trên giống cà chua Mỹ VL2200.

2. Các thí nghiệm trong phòng

2.1. Thu thập mẫu và phương pháp phân lập mẫu gây bệnh.

Thu thập: Chúng tôi thu thập mẫu dựa trên triệu chứng của bệnh. Do cây bệnh thường bị hại ở vùng rễ, gốc thân và nguồn nấm tồn tại trong đất nên đối với cây bệnh do nấm *Fusarium* gây ra thì lấy mẫu cả cây. Sau đó để ẩm, mát và được giữ trong túi giấy, khi lấy mẫu xong phải giữ mẫu tươi và đem đi giám định. Quan sát màu sắc và các đặc điểm hình thái của nấm dưới kính hiển vi.

Phân lập: Chọn mẫu bệnh có triệu chứng đặc trưng tươi mới của đối tượng nghiên cứu. Mẫu bệnh ở các bộ phận của cây bị bệnh đều được bảo quản ở nơi thoáng mát. Loại bỏ các mô bệnh đã bị chết hoại hoặc cũ vì trên đó có nhiều loại vi sinh vật hoại sinh, loại bỏ mô bệnh đã bị côn trùng, chuột ăn hoặc bị vết thương cơ giới vì các mô bệnh này cũng tồn tại nhiều vi sinh vật hoại sinh lẫn tạp. Mẫu lý tưởng nhất là các mô mới bị bệnh.

Đối với mẫu bệnh héo vàng: Do đặc tính của nấm *Fusarium*

oxysporum thường gây hại ở bó mạch và vỏ rễ nên chúng tôi tiến hành lấy mẫu tại thân hoặc cành, rễ. Để tránh sự nhiễm tạp khi phân lập, trước khi tiến hành phân lập, các mẫu bệnh được rửa sạch bằng nước máy, sau đó dùng giấy thấm khô bề mặt, khử trùng bề mặt bằng cồn 96⁰, sau đó tách bỏ lớp vỏ ngoài cùng hoặc toàn bộ vỏ rễ. Cắt mô bệnh thành từng lát mỏng 1 – 2 mm để cấy trên môi trường nghèo dinh dưỡng WA (ít bị lẫn tạp) sau 3 – 4 ngày, chọn tản nấm phát triển tốt (đó là những tản nấm *Fusarium*), cấy truyền sang môi trường chọn lọc PPA. Sau 3 – 4 ngày lại chọn tản nấm mọc tốt cấy truyền sang môi trường PGA (cấy truyền khoảng 4 – 5 lần cho đến khi thuần khiết). Sau đó cấy truyền sang môi trường CLA để theo dõi một số đặc điểm hình thái, chỉ tiêu phân loại nấm và để giữ nguồn phục vụ cho các thí nghiệm nghiên cứu về sau.

2.2. Kỹ thuật cấy truyền

Kỹ thuật cấy truyền qua các môi trường: khử trùng que cấy bằng cồn 96⁰ trên ngọn lửa đèn cồn, chọn hộp lồng petri có tản nấm ít bị lẫn tạp, lấy một ít sợi nấm bằng cách lấy cả phần thạch và phần sợi nấm phát triển tốt giáp ranh rìa ngoài với một ít phần thạch. Đặt nhẹ nhàng sang chính giữa môi trường đã chuẩn bị sẵn. cấy truyền nấm đến khi thuần (3 – 4 lần).

Kỹ thuật cấy đơn bào tử: Dùng để tách riêng từng nấm trong môi trường phân lập từ mô cây bệnh hoặc từ đất. Tản nấm từ một bào tử hay đỉnh của sợi nấm là đồng nhất cả về hình dạng và độ thuần. Để tiến hành nuôi cấy đơn bào tử, bào tử được nuôi cấy nảy mầm trên môi trường WA. Muốn thao tác cấy dễ dàng cần tạo mật độ bào tử trên môi trường WA tương đối thưa. Để đạt được yêu cầu đó khi pha dung dịch

dùng que cấy khô một ổ bào tử trên lá cấy chườm, hoà trong 10 ml nước cất vô trùng (trong ống nghiệm) sẽ cho nồng độ dung dịch bào tử thích hợp. Lắc đều dung dịch bào tử, sau đó đổ lên đĩa môi trường WA tráng đều, để 30 giây đến 1 phút cho bào tử lắng xuống mặt thạch rồi gạn sạch nước, để trong điều kiện không chiếu sáng (đặt đĩa môi trường nghiêng khoảng 30° – 40° cho ráo nước trong điều kiện tối khoảng 18 – 20 giờ). Sau đó các đĩa môi trường WA cấy đơn bào tử nấm được kiểm tra dưới kính lúp điện tử, khi thấy bào tử đã nảy mầm thì tiến hành cắt một bào tử: dùng một que cấy đã vô trùng, soi dưới kính cắt một miếng thạch rất nhỏ có chứa chỉ một bào tử đã nảy mầm cấy truyền sang môi trường PGA, hoặc CLA đã chuẩn bị sẵn.

Phương pháp cấy đơn bào tử thuần ít bị nhiễm tạp hơn cấy bằng sợi nấm và tản nấm, nấm phát triển đồng đều hơn. Sau khi cấy, nấm được để trong điều kiện thích hợp tùy theo yêu cầu của từng thí nghiệm và giữ nguồn được tốt.

2.3. Thí nghiệm thử hiệu lực đối kháng của nấm *Trichoderma viride* đối với nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA.

Thí nghiệm được tiến hành với 4 công thức:

- 1) Công thức 1: *Tr.viride* – *Fusarium oxysporum* cấy đồng thời.
- 2) Công thức 2: *Fusarium oxysporum* cấy trước *Tr.viride* 24 giờ.
- 3) Công thức 3: *Fusarium oxysporum* cấy sau *Tr.viride* 24 giờ.
- 4) Công thức 4: *Fusarium oxysporum* cấy độc lập.

Các thí nghiệm chúng tôi tiến hành với 3 lần nhắc lại trên môi trường PGA, khoảng cách cấy giữa 2 điểm 3cm trên đĩa Petri có đường kính 90 mm từ môi trường PGA chúng tôi tiến hành theo dõi và đo kích

thước tằm năm sau 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ.

2.4. Thí nghiệm ảnh hưởng của pH môi trường tới sự sinh trưởng của nấm *Fusarium oxysporum*.

Tiến hành thí nghiệm trên môi trường PGA. Trước khi môi trường PGA được đưa vào hấp dùng giấy quỳ hoặc máy đo pH để đo xác định môi trường pH là bao nhiêu. Muốn điều chỉnh pH thấp chúng tôi dùng axit HCL (nhỏ vài giọt vào môi trường lắc đều, sau đó đo). Muốn tăng pH cao lên chúng tôi dùng NaOH để điều chỉnh. Sau khi có các ngưỡng pH đạt yêu cầu thí nghiệm chúng tôi đem hấp môi trường ở điều kiện 121⁰C (1,5atm) trong thời gian 45 phút. Môi trường hấp xong để nguội tiến hành đổ ra đĩa petri đã được khử trùng và làm khô, để cho mặt thạch đông khô rồi dùng nấm thuần khiết cấy lên môi trường. Gồm các công thức: pH từ 4, 5, 6, 7, 8, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, đo kích thước tằm năm sau 12 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 120 giờ.

2.5. Thí nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ tới sự sinh trưởng của nấm *Fusarium oxysporum*.

Sau khi phân lập được nấm thuần trên môi trường PGA. Tiến hành cấy lên môi trường PGA đã chuẩn bị sẵn. sau đó để môi trường ở các ngưỡng nhiệt độ 15⁰C, 20⁰C, 25⁰C, 30⁰C, 35⁰C. Mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần nhắc lại là 3 đĩa petri. Thí nghiệm được tiến hành trong cùng điều kiện, cùng thời điểm. Sau đó để môi trường trong các điều kiện nhiệt độ khác nhau nhờ tủ lạnh, tủ định ôn, theo dõi sự sinh trưởng phát

triển của sợi nấm sau 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ngày cấy và đo kích thước đường kính tản nấm (mm) tại các vị trí rộng nhất và hẹp nhất của tản nấm, lấy giá trị trung bình.

2.6. Thí nghiệm khảo sát hiệu lực của một số loại thuốc trừ nấm đối với sự phát triển của nấm *Fusarium oxysporum*.

Chúng tôi tiến hành thí nghiệm nhằm mục đích tìm và so sánh hiệu lực của một số loại thuốc trừ nấm đối với nấm *Fusarium oxysporum*.

Thí nghiệm được tiến hành với 4 loại thuốc thông dụng:

- 1) Daconil 72 WP (nồng độ 0.1; 0.2; 0.3%)
- 2) Zineb 80 WP (nồng độ 0.1; 0.2; 0.3%)
- 3) Topsin M75 WP (nồng độ 0.1; 0.2; 0.3%)
- 4) Ricide 72 WP (nồng độ 0.1; 0.2; 0.3%)
- 5) Đối chứng: không có thuốc

Các thuốc thử nghiệm được pha theo phương pháp dung dịch mẹ (pha 1g thuốc vào 10ml nước cất vô trùng) sẽ có dung dịch mẹ là 10% so với nồng độ thương phẩm. Tùy từng loại thuốc mà sau khi pha tạo được dung dịch mẹ có nồng độ khác nhau theo 3 ngưỡng nồng độ 0.1; 0.2; 0.3. Tăng hay giảm nồng độ thuốc bằng cách tăng hay giảm dung dịch mẹ.

Cách tạo môi trường thuốc: Môi trường PGA sau khi được hấp khử trùng, cho vào các bình tam giác đã được chia vạch sẵn. Để nguội dần đến 60°C, sau đó dùng xilanh bơm thuốc theo nồng độ cần thí nghiệm vào các bình tam giác đã có sẵn môi trường, lắc đều rồi nhanh chóng đổ môi trường vào các đĩa petri (thao tác làm nhanh, cẩn thận). Sau khi môi trường đông cứng, dùng nấm thuần cấy lên (mỗi công thức nhắc lại 3 lần). Sau khi cấy hàng ngày theo dõi đo đường kính tản nấm, quan sát đặc điểm

hình thái và màu sắc tản nấm. Công thức đối chứng không dùng thuốc hoá học.

2.7. Thí nghiệm lây bệnh nhân tạo trong nhà lưới đối với nấm *Fusarium oxysporum*.

Trồng cây sạch bệnh: chọn những hạt giống khỏe, sạch bệnh có tỷ lệ nảy mầm tốt đem gieo trong chậu, để trong điều kiện vô trùng cách ly. Chọn loại đất gieo có mức xác suất tồn tại nguồn bệnh thấp nhất, lấy đất ở nơi vụ trước trồng lúa hoặc chỗ đất mà từ trước đến nay chưa trồng cấy các cây họ cà để gieo hạt). Sau khi hạt nảy mầm và phát triển thành cây con thường ở giai đoạn 2 – 3 lá thân. Chọn tiếp các cây khỏe đem trồng vào các chậu nhựa có lỗ thoát nước. Đất phải được đem hấp khử trùng. Cây sau khi trồng được chăm sóc trong điều kiện cách ly.

Chuẩn bị nguồn nấm để lây bệnh: nấm thuần khiết được cấy truyền vào môi trường thô trấu cám và để ở nhiệt độ 25⁰C trong thời gian từ 7 – 15 ngày sau đó mới tiến hành lây bệnh.

Phương pháp lây bệnh nhân tạo:

Lây bệnh trên hạt: chúng tôi tiến hành gieo hạt trong đất có xử lý nấm để tìm hiểu ảnh hưởng của nấm đến sự nảy mầm của hạt. Dùng chậu nhựa có đục lỗ ở đáy để thoát ẩm, dồn đất vào, gần miệng chậu rải một lớp nấm thuần *Fusarium oxysporum* sau khi nhân nguồn ở môi trường thô rồi rải một lớp đất mỏng cho kín hết lớp nấm đó và tiến hành gieo hạt lên trên rồi lại rải thêm một lớp đất mỏng phủ kín hạt sau đó tưới ẩm đầy đủ và tiến hành theo dõi tỷ lệ nảy mầm của các hạt ở mỗi công thức.

Lây bệnh trên cây con: khi bào tử đã hình thành rất nhiều trên môi trường thô trấu cám, dùng môi trường thô rải quanh gốc cây ở phần tiếp

giáp giữa thân và rễ. Sau đó phủ một lớp đất mỏng cho kín. Tránh điều kiện ngoại cảnh xấu tác động vào bào tử nấm. Tiến hành theo dõi thời kỳ tiềm dục của bệnh và tưới ẩm hàng ngày. Ở công thức đối chứng phủ trấu cám không có nguồn bệnh, (mỗi công thức nhắc lại 3 lần).

2.8. Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp tính toán xử lý số liệu

2.8.1. Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp tính toán

Cây bệnh được phát hiện dựa trên những đặc điểm triệu chứng ở phần thân sát mặt đất và trên cành lá. Nếu cần thiết chúng tôi tiến hành kiểm tra bó mạch để giám định mẫu bệnh.

1) Tỷ lệ bệnh (%)

$$TLB (\%) = \frac{A}{B} \times 100$$

Trong đó: A: Số cây bị bệnh
B: Số cây điều tra

2) Đánh giá hiệu lực của thuốc hóa học trong phòng thí nghiệm

Áp dụng công thức Abbott

$$HLT (\%) = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Trong đó: HLT (%): Hiệu lực của thuốc (%)
C: Mức độ bệnh (%) ở các công thức đối chứng
T: Mức độ bệnh (%) ở các công thức xử lý thuốc

3) Đánh giá hiệu lực của thuốc ngoài đồng ruộng

Áp dụng công thức Henderson-Tilton

$$HLT (\%) = \left(1 - \frac{T_a \times C_b}{C_a \times T_b} \right) \times 100$$

$T_b \times C_a$

Trong đó: HLT(%) : Hiệu lực của thuốc(%)

T_a : Mức độ bệnh(%) ở công thức thí nghiệm sau xử lý

T_b : Mức độ bệnh(%) ở công thức thí nghiệm trước xử lý

C_a : Mức độ bệnh(%) ở công thức đối chứng sau xử lý

C_b : Mức độ bệnh(%) ở công thức đối chứng trước xử lý

2.8.2. Xử lý số liệu

Xử lý số liệu thu được theo chương trình thống kê của Viện lúa quốc tế (IRRISTAT), EXCLE, so sánh DUNCAN. So sánh các giá trị chênh lệch thực nghiệm giữa từng cặp chỉ số trung bình.

PHẦN 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

I. Kết quả nghiên cứu bệnh héo vàng *Fusarium oxysporum*.

1. Đặc điểm triệu chứng

Bệnh héo vàng *Fusarium oxysporum* gây ra làm cây con bị bệnh còi cọc, kém phát triển, sau bị chết rũ. Cây trưởng thành bị bệnh thường là các lá ở phía gốc biến vàng, sau đó lan dần lên phía ngọn, cây héo dần và chết. Biểu hiện triệu chứng trên thân có những vết màu nâu không đều chạy dọc thân, đặc biệt ở phần giáp rễ và gốc thân hơi teo thắt lại, khi gặp trời âm u hoặc ẩm ướt kéo dài trên đó xuất hiện một lớp nấm màu phớt hồng, đó chính là bào tử phân sinh và cành bào tử phân sinh của nấm gây bệnh.



Ảnh 1: Cây cà chua bị bệnh héo vàng do nấm

Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici

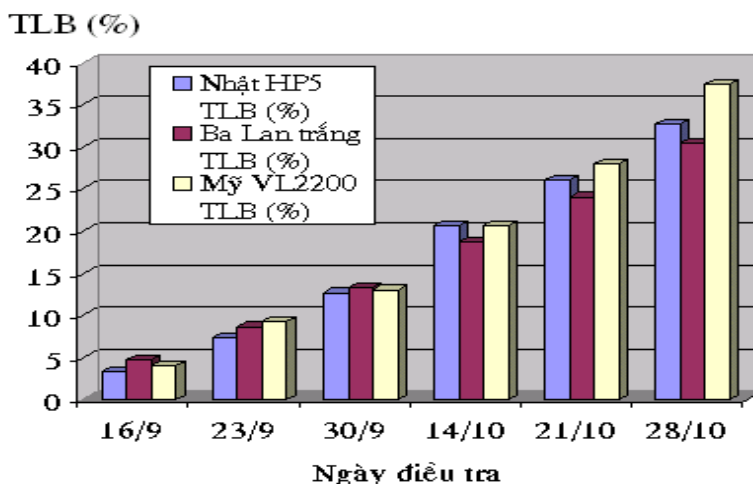
2. Diễn biến bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra trong vụ hè thu 2007 tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội.

Để tiến hành theo dõi diễn biến bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra trên đồng ruộng chúng tôi tiến hành điều tra trên cây cà chua với 3 giống cà chua Nhật HP5, Ba Lan trắng, Mỹ VL2200 vụ hè thu năm 2007. Kết quả thu được ở bảng 1.

Bảng 1: Ảnh hưởng của các giống cà chua khác nhau đến sự phát triển của bệnh héo vàng (*Fusarium oxysporum*) tại thôn Hoàng Long - Đặng xá - Gia Lâm – Hà Nội.

Giống	Nhật HP5	Ba Lan trắng	Mỹ VL2200
Chỉ tiêu	TLB (%)	TLB (%)	TLB (%)
Ngày điều tra			
9/9/07	1.32	3.32	1.32
16/9/07	3.32	4.66	3.99
23/9/07	7.32	8.66	9.32
30/9/07	12.67	13.33	13.00
7/10/07	17.33	15.33	16.66
14/10/07	20.65	18.66	20.65
21/10/07	26.00	24.00	28.00
28/10/07	32.66	30.33	37.33

Ghi chú: Ngày trồng: 2/8/2007



Biểu đồ 1: Sự phát triển của bệnh héo vàng trên 3 giống cà chua khác nhau tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội

Qua bảng 1 chúng tôi thấy các giống cà chua khác nhau có mức độ nhiễm bệnh héo vàng cũng khác nhau. Qua đợt điều tra ngày 28/10/2007 cho thấy giống cà chua Mỹ VL2200 có tỷ lệ nhiễm bệnh cao nhất là 37.33%, rồi đến giống cà chua Nhật HP5 là 32.66%, cuối cùng là giống cà chua Ba Lan trắng là 30.33%. Như vậy giống Ba Lan trắng có tỷ lệ bệnh thấp nhất trong 3 giống.

Nhận xét kết quả bảng 1: ở xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội là vùng chuyên canh rau nhiều năm, cà chua lại được trồng từ năm này qua năm khác nên có tỷ lệ nhiễm bệnh khá cao, có thể do nguồn nấm bệnh được tích lũy nhiều trong đất. Nhất là trong vụ hè thu năm nay thời tiết rất thuận lợi cho bệnh phát triển gây hại. Qua bảng 1 chúng tôi thấy càng về sau bệnh càng có xu thế phát triển mạnh và tăng nhanh trên các giống cà chua.

3. Ảnh hưởng của mật độ trồng đến bệnh héo vàng tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội.

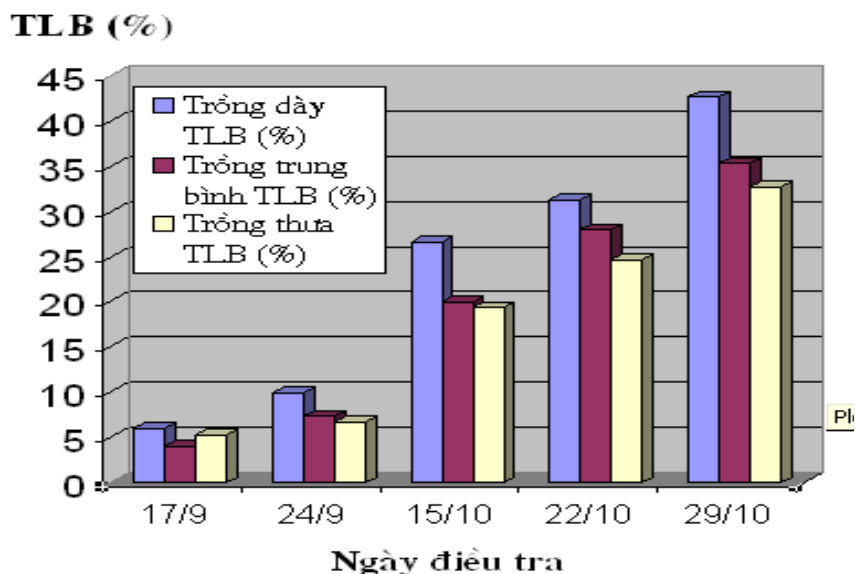
Chúng tôi tiến hành điều tra theo dõi sự phát triển của bệnh theo các mật độ trồng: trồng dày (3.5 – 4.5 cây/m²), trồng thưa (1.5 – 2 cây/m²), trồng trung bình (3.5 cây/m²) trên giống cà chua Ba Lan trắng được trồng từ ngày 28/7/2007 tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội. Kết quả thu được trình bày ở bảng 2.

Nhận xét: Qua kết quả bảng 2 cho thấy ở mật độ trồng dày có tỷ lệ nhiễm bệnh cao nhất, sau đó đến mật độ trồng trung bình và trồng thưa. Thực tế qua ngày điều tra 29/10/2007 thấy tỷ lệ bệnh ở mật độ trồng dày là 42.66%, còn ở mật độ trồng trung bình có 35.33%, còn ở ruộng trồng thưa chỉ có 32.67%. Do có tỷ lệ nhiễm bệnh cao như vậy là do cây trồng quá dày dẫn đến cây cạnh tranh nhau về ánh sáng, dinh dưỡng, cây thiếu ánh sáng, khả năng chống chịu bệnh giảm. Mặt khác do một phần bào tử nấm tồn tại trong đất từ các vụ trước đã làm cho mức độ nhiễm bệnh cao.

Bảng 2: Ảnh hưởng của mật độ trồng đến bệnh héo vàng *Fusarium oxysporum* tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội.

Công thức	Trồng dày	Trồng trung bình	Trồng thưa
Chỉ tiêu	TLB (%)	TLB (%)	TLB (%)
Ngày điều tra			
10/9/07	2.65	1.99	1.32
17/9/07	6.00	3.99	5.33
24/9/07	10.00	7.33	6.67
1/10/07	14.66	10.67	10.00
8/10/07	19.34	16.00	15.33
15/10/07	26.67	20.01	19.34
22/10/07	31.34	28.00	24.67
29/10/07	42.66	35.33	32.67

Ghi chú: ngày trồng 2/8/2007



Biểu đồ 2: Ảnh hưởng của bệnh héo vàng ở các mật độ trồng khác nhau

4. Ảnh hưởng của địa thế đất tới bệnh héo vàng (*Fusarium oxysporum*) trên giống đậu tương DT 84 hoa tím tại xã Phú Thụy – Gia Lâm – Hà Nội.

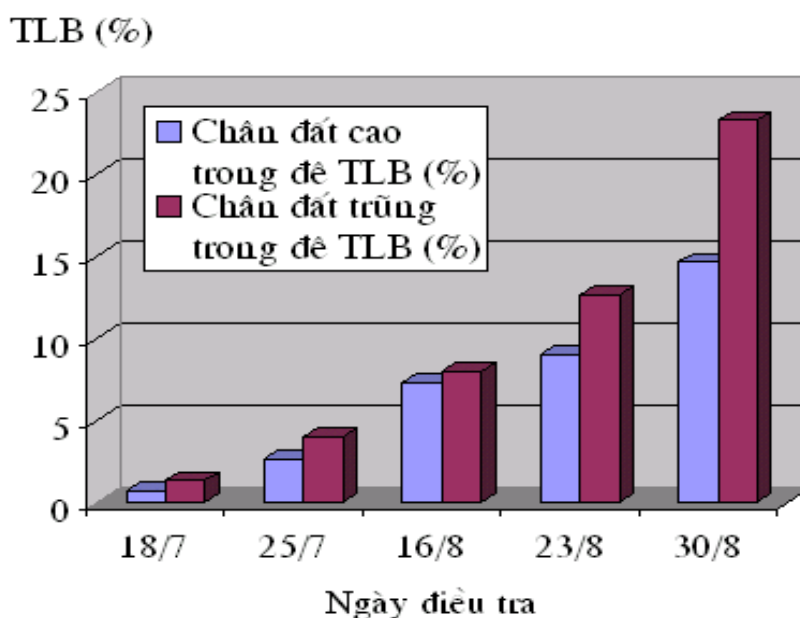
Do bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra nguồn bệnh tồn tại chủ yếu là trong đất và liên quan đến độ ẩm đất cho nên ảnh hưởng của địa thế đất đến bệnh héo vàng là rất lớn. Chúng tôi tiến hành theo dõi sự phát triển của bệnh héo vàng trên hai chân đất khác nhau trên giống đậu tương DT 84 hoa tím trồng tại xã Phú Thụy – Gia Lâm – Hà Nội. Kết quả thu được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3: Ảnh hưởng của địa thế đất đến sự phát triển của bệnh héo vàng (*Fusarium oxysporum*) trên giống đậu tương DT84 hoa tím tại xã Phú Thụy – Gia Lâm – Hà Nội.

Công thức	Chân đất cao trong đê	Chân đất trũng trong đê
Chỉ tiêu	TLB (%)	TLB (%)
Ngày điều tra	TLB (%)	TLB (%)
18/7/07	0.66	1.32
25/7/07	2.65	3.99
1/8/07	3.32	4.66
8/8/07	5.33	6.67
16/8/07	7.34	8.00
23/8/07	9.00	12.66
30/8/07	14.67	23.34

Ghi chú: Đậu tương DT 84 hoa tím trồng ngày 23/6/2007

Kết quả thu được ở bảng 3 cho thấy ở 2 chân đất khác nhau có tỷ lệ bệnh khác nhau, ở ruộng có chân đất cao có tỷ lệ bệnh thấp hơn ở ruộng có chân đất thấp. Thực tế qua ngày điều tra 30/8/2007 cho thấy tỷ lệ nhiễm bệnh của ruộng ở chân đất cao trong đê là 14.67%, còn ở chân đất thấp trong đê là 23.34%.



Biểu đồ 3: Ảnh hưởng của địa thế đất đến sự phát triển của bệnh

héo vàng (*Fusarium oxysporum*).

Chúng tôi thấy sở dĩ có sự khác biệt về tỷ lệ bệnh là do ở chân đất cao có một số yếu tố bất lợi cho nấm *Fusarium oxysporum* phát triển như ẩm độ thấp, đất có độ thông thoáng hơn và cũng có thể do lượng mưa dễ rửa trôi các bào tử xuống xuống chỗ đất thấp nên hạn chế được sự tồn tại và lây nhiễm của nguồn bệnh. Còn ở chân đất thấp có tỷ lệ bệnh cao hơn là do đất có ẩm độ cao, khi có mưa lại khó thoát nước nên bào tử nấm còn tích tụ lại trong đất nhiều tạo điều kiện cho nấm phát triển gây hại.

5. Ảnh hưởng của việc luân canh đến bệnh héo vàng trên cà chua do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội.

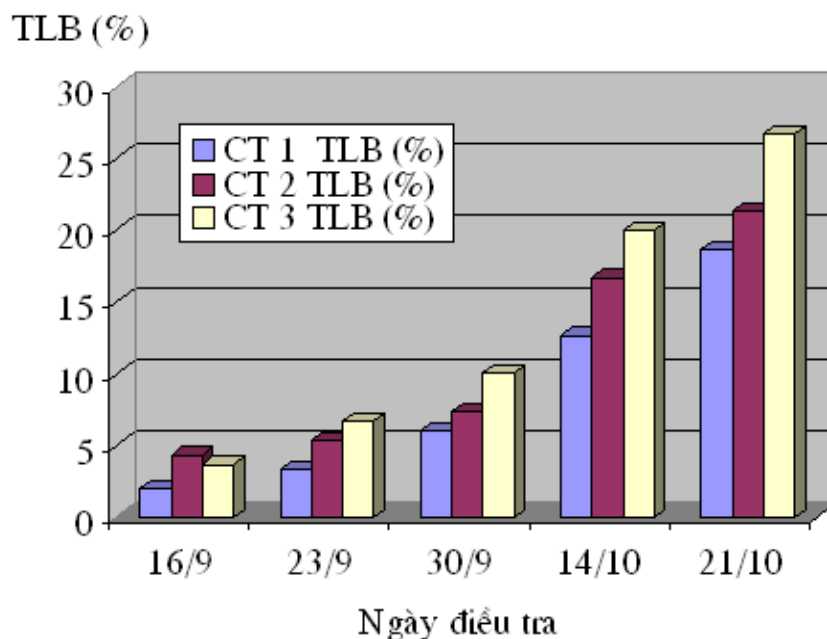
Biện pháp luân canh cũng là một yếu tố quan trọng nhằm hạn chế nguồn bệnh trên đồng ruộng. Chúng tôi đã tiến hành điều tra theo 3 công thức luân canh trên cây cà chua tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội. Kết quả thu được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4: Ảnh hưởng của luân canh tới bệnh héo vàng *Fusarium oxysporum* trên cây cà chua tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội.

Công thức	Lúa – cà chua - lúa	Lúa – hành ta – cà chua	Lúa – cà tím – cà chua
Chỉ tiêu	TLB (%)	TLB (%)	TLB (%)
Ngày điều tra			
9/9/07	0.66	1.32	2.66
16/9/07	2.00	4.33	3.66
23/9/07	3.32	5.33	6.67
30/9/07	6.00	7.34	10.00
7/10/07	9.33	11.33	15.33
14/10/07	12.66	16.67	20.00

21/10/07	18.66	21.34	26.67
----------	-------	-------	-------

Thí nghiệm được tiến hành trên giống cà chua trắng Mỹ.



Biểu đồ 4: Bệnh héo vàng (Fusarium oxysporum) ở các công thức luân canh khác nhau.

Ghi chú: CT 1: Lúa – cà chua – lúa.

CT 2: Lúa – hành ta – cà chua.

CT 3: Lúa – cà tím – cà chua.

Từ kết quả bảng 4 cho thấy ở công thức luân canh (lúa – cà chua – lúa) có tỷ lệ bệnh thấp nhất so với công thức luân canh (lúa – hành ta – cà chua) và công thức (lúa – cà tím – cà chua). Qua đợt điều tra ngày 21/10/2007 cho thấy ở công thức luân canh 1 có tỷ lệ bệnh thấp nhất là 18.66% và công thức luân canh 3 có tỷ lệ bệnh cao nhất là 26.67%. Nguyên nhân ở công thức 1 có tỷ lệ bệnh thấp là do trên đồng ruộng đã có sự thay đổi ký chủ nấm *Fusarium oxysporum* dẫn đến làm thay đổi môi trường sống và chất dinh dưỡng của nấm đồng thời đã làm giảm mạnh

nguồn nấm trong đất. Do ở công thức 1 trồng lúa nước nên có một thời gian dài ngâm nước đã làm giảm nguồn nấm *Fusarium oxysporum* tồn tại trong đất, còn ở công thức 3 có tỷ lệ bệnh cao hơn là do cà tím cũng là một loài ký chủ của nấm *Fusarium oxysporum* nên nguồn bệnh trong đất không giảm mà còn tăng lên dẫn đến nhiễm bệnh nặng hơn. Như vậy qua ba công thức luân canh chúng tôi thấy khi luân canh cây trồng cạn với cây trồng nước có ý nghĩa lớn trong việc phòng trừ bệnh héo vàng *Fusarium oxysporum* gây ra.

6. Ảnh hưởng của một số loại thuốc hoá học đến bệnh héo vàng cà chua do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra trên đồng ruộng tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội.

Chúng tôi tiến hành điều tra hiệu lực của một số loại thuốc hoá học ngoài đồng ruộng trên giống cà chua Nhật HP5 tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội. Kết quả thu được trình bày ở bảng 5.

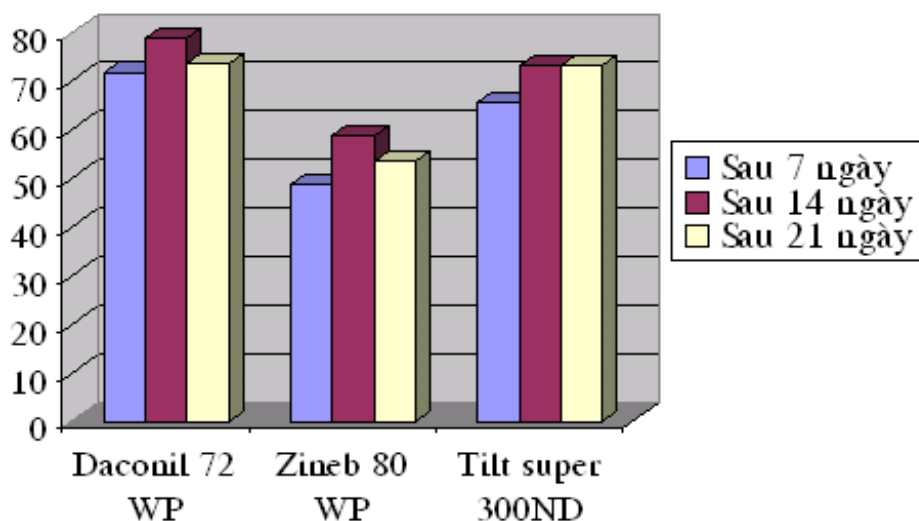
Bảng 5: Ảnh hưởng của một số loại thuốc hoá học tới bệnh héo vàng (*Fusarium oxysporum*) cà chua ngoài đồng ruộng tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội.

Loại thuốc	Nồng độ (%)	TLB (%) trước phun 1 ngày	TLB (%) sau phun			Hiệu quả phòng trừ (%)		
			Sau 7 ngày	Sau 14 ngày	Sau 21 ngày	Sau 7 ngày	Sau 14 ngày	Sau 21 ngày

Daconil 72 WP	0.1	1.99	3.99	6.34	10.33	71.60	78.50	73.30
Zineb 80 WP	0.1	1.65	6.00	10.66	15.00	48.60	58.70	53.30
Tilt super 300ND	0.1	1.90	4.66	8.01	10.00	65.30	73.10	72.90
Đối chứng		1.32	9.33	20.67	25.67			

Hiệu lực của một số loại thuốc hoá học được thể hiện qua biểu đồ 5:

Hiệu lực thuốc (%)



Biểu đồ 5: Hiệu quả phòng trừ của một số loại thuốc hoá học sau 7, 14, 21 ngày sử lý trên đồng ruộng trên giống cà chua Nhật HP5.

Qua kết quả điều tra khảo nghiệm hiệu lực của một số loại thuốc hoá học ở bảng 5 sau 7 ngày, 14 ngày, 21 ngày thấy trong 3 loại thuốc tiến hành chỉ có thuốc Tilt super 300ND và thuốc Daconil 72WP là có khả năng hạn chế tốt hơn đối với bệnh héo vàng cà chua ngoài đồng ruộng, còn thuốc Zineb 80WP có hiệu lực thấp đối với sự phát triển của bệnh héo vàng. Đặc biệt sau 21 ngày Tilt super 300ND đạt hiệu quả phòng trừ là

72.90%, Daconil 72WP đạt 73.30%, còn Zineb 80WP chỉ đạt được 53.30%. Như vậy 2 loại thuốc Tilt super 300ND và Daconil 72WP cần tiếp tục nghiên cứu trên đồng ruộng để có thể đưa vào phòng trừ bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra trong sản xuất.

7. Thí nghiệm thử hiệu lực của nấm đối kháng *Trichoderma viride* đối với bệnh héo vàng cà chua do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra.

7.1. So sánh hiệu quả phòng trừ của chế phẩm nấm đối kháng *Trichoderma viride* và thuốc hóa học trên giống cà chua Mỹ VL2200 tại xã Đặng Xá - Gia Lâm – Hà Nội.

Chúng tôi tiến hành điều tra khảo sát hiệu quả phòng trừ của nấm đối kháng *Trichoderma viride* và thuốc hoá học để so sánh hiệu lực của thuốc hoá học và nấm đối kháng *Trichoderma viride* đối với sự phát sinh phát triển của bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra.

Chúng tôi tiến hành thí nghiệm với 4 công thức:

CT 1: (Đối chứng). Chỉ xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum* khi cây 2 lá mầm.

CT 2: Xử lý *Trichoderma viride* vào đất trước khi trồng 10 ngày. Khi cây có 2 lá mầm xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum*.

CT 3: Xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum* khi cây có 2 lá mầm, đến khi cây có 3 lá thật phun thuốc Rovral 50 WP nồng độ 0.1%.

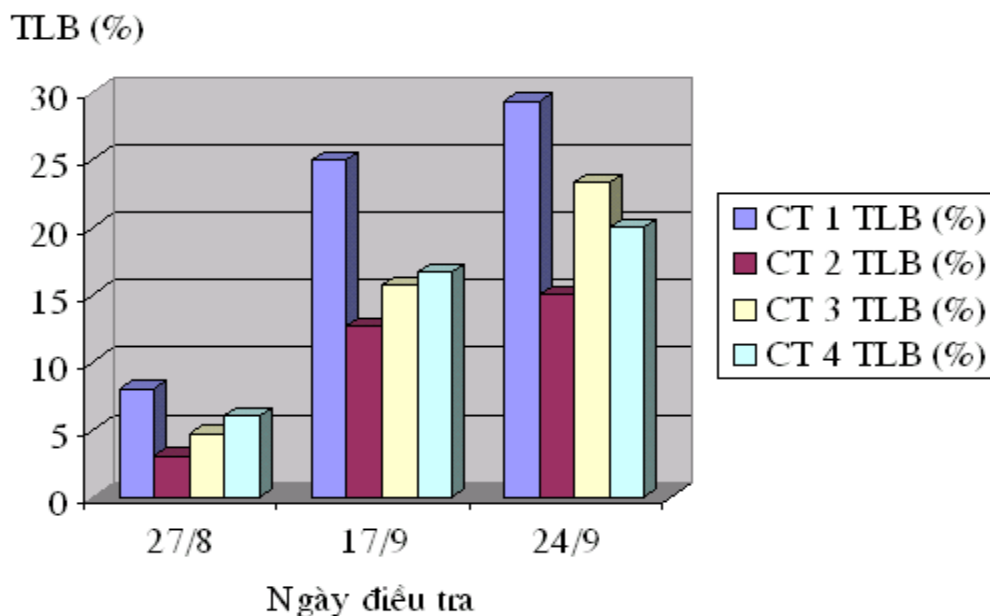
CT 4: Xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum* khi cây có 2 lá mầm, đến khi cây có 3 lá thật phun *Trichoderma viride* (90g chế phẩm/30m²).

Kết quả được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6: So sánh hiệu quả phòng trừ của chế phẩm đối kháng *Trichoderma viride* và thuốc hoá học Rovral 50WP 0.1% trên giống cà chua Mỹ VL2200.

Công thức	CT 1	CT 2	CT 3	CT 4
Chỉ tiêu	TLB (%)	TLB (%)	TLB (%)	TLB (%)
Ngày điều tra				
27/8/07	8.00	2.99	4.66	6.00
3/9/07	15.33	7.33	7.34	8.00
10/9/07	22.00	9.66	10.67	11.33
17/9/07	25.00	12.67	15.67	16.66
24/9/07	29.33	15.00	23.33	20.00

Ghi chú: Cà chua được trồng ngày 2/8/2007.



*Biểu đồ 6: so sánh hiệu quả phòng trừ của chế phẩm đối kháng *Trichoderma viride* và thuốc hoá học Rovral 50WP 0.1%*

Theo kết quả điều tra ở bảng 6 chúng tôi thấy qua ngày điều tra 24/9/2007 ở công thức 1 chỉ xử lý nấm bệnh nên tỷ lệ nhiễm bệnh rất cao

đạt 29.33%, nhưng ở công thức 2 sau khi xử lý *Trichoderma viride* trước khi trồng 10 ngày mới xử lý nấm bệnh tỷ lệ bệnh giảm rõ rệt chỉ còn 15.00%, đến công thức 3 sau khi xử lý thuốc Rovral 50WP 0.1% thì tỷ lệ bệnh giảm xuống còn 23.33%, và ở công thức 4 tỷ lệ bệnh là 20.00%. Như vậy hiệu quả phòng trừ của chế phẩm đối kháng *Trichoderma viride* tốt hơn và nhanh hơn thuốc hoá học Rovral 50WP.

7.2. Thí nghiệm tìm hiểu liều lượng chế phẩm *Trichoderma viride* xử lý đất trước khi trồng cà chua. (Chế phẩm có $10^8 - 10^9$ bào tử *T.viride*/1g chế phẩm).

Nấm đối kháng *Trichoderma viride* có khả năng ức chế khá tốt đối với một số nấm gây bệnh có nguồn gốc trong đất điển hình như *Fusarium oxysporum*. Nên chúng tôi tiến hành thí nghiệm tìm hiểu liều lượng chế phẩm *Trichoderma viride* xử lý vào đất trước khi trồng cà chua để xác định ở liều lượng nào có tác dụng tốt nhất làm giảm tỷ lệ bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra tại xã Đặng Xá - Gia Lâm - Hà Nội.

Thí nghiệm được tiến hành trên giống cà chua Ba Lan trắng với 4 công thức :

CT 1: (Đối chứng), chỉ xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum* khi cây có 2 lá mầm.

CT 2: Xử lý *Trichoderma viride* (1g/1000g phân chuồng) trước khi gieo. Khi cây có 2 lá mầm xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum*.

CT 3: Xử lý *Trichoderma viride* (3g/1000g phân chuồng) trước khi gieo. Khi cây có 2 lá mầm xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum*.

CT 4: Xử lý *Trichoderma viride* (5g/1000g phân chuồng) trước khi

gieo. Khi cây có 2 lá mầm xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum*.

Kết quả được trình bày ở bảng 7.

Bảng 7: Thí nghiệm tìm hiểu liều lượng chế phẩm *Trichoderma viride* xử lý đất trước khi trồng cà chua phòng trừ bệnh héo vàng.

Công thức	CT 1	CT 2	CT 3	CT 4
Chỉ tiêu	TLB (%)	TLB (%)	TLB (%)	TLB (%)
Ngày điều tra				
6/9/07	11.34	3.99	1.99	1.98
13/9/07	14.00	5.00	3.33	2.66
20/9/07	18.67	11.01	8.67	5.00
27/9/07	21.33	14.66	11.67	9.32
4/10/07	26.00	17.67	14.67	11.01
11/10/07	30.01	22.00	17.99	13.66

Ghi chú: Ngày trồng 2/8/07.

Chế phẩm có $10^8 - 10^9$ bào tử *Trichoderma viride*/1g chế phẩm



Ảnh 2: Ruộng thử nghiệm chế phẩm sinh học



Ảnh 3: Ruộng đối chứng (không xử lý)

Qua kết quả bảng 7 cho thấy khả năng ức chế cao của chế phẩm nấm đối kháng *Trichoderma viride* đối với nấm *Fusarium oxysporum*. Ở công thức 1 (đối chứng) chỉ xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum* tỷ lệ bệnh là 30.01%, ở công thức 2 xử lý *Trichoderma viride* (1g/1000g phân chuồng) trước khi gieo có tỷ lệ bệnh là 22.00%. Khi tăng liều lượng *Trichoderma viride* lên (5g/1000g phân chuồng) trước khi gieo ở công thức 4, tỷ lệ bệnh giảm chỉ còn 13.66%. Như vậy liều lượng của chế phẩm *Trichoderma viride* càng cao, khả năng làm giảm sự phát triển của bệnh héo vàng trên đồng ruộng càng mạnh. Tuy nhiên cần phải nghiên cứu sâu hơn nữa về chế phẩm nấm đối kháng *Trichoderma viride* để đưa vào sản xuất phòng chống bệnh có hiệu quả mà không làm ô nhiễm môi trường.

8. Thí nghiệm trong nhà lưới

8.1. Thử hiệu lực đối kháng của nấm *Trichoderma viride* xử lý đất phòng chống bệnh héo vàng.

Chúng tôi tiến hành thí nghiệm trên giống đậu tương DT 84 đang được trồng ngoài sản xuất. Kết quả được trình bày ở bảng 8.

Bảng 8: Tỷ lệ nảy mầm (%) và tỷ lệ bệnh (%) sau khi xử lý đất bằng nấm đối kháng *Trichoderma viride*.

Công thức	Tổng số hạt gieo	Tổng số hạt mọc	Tỷ lệ mọc mầm (%)	TLB (%)
CT 1	30	18	60.00	88.90
CT 2	30	26	86.70	11.50
CT 3	30	22	73.30	4.60
CT 4	30	27	90.00	0.00
CT5	30	29	96.70	0.00

Ghi chú: Ngày gieo hạt : 10/8/2007

Ngày mọc mầm : 14/8/2007

Ngày điếu tra: 22/8/2007

CT1: Đối chứng xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum*.

CT2: Xử lý nấm *Trichoderma viride* vào đất rồi gieo hạt ngay.

CT3: Xử lý nấm *Trichoderma viride* vào đất sau 3 ngày rồi gieo hạt.

CT4: Xử lý nấm *Trichoderma viride* vào đất sau 5 ngày rồi gieo hạt.

CT5: Xử lý nấm *Trichoderma viride* vào đất sau 10 ngày rồi gieo hạt.

Mỗi công thức với 3 lần nhắc lại, mỗi chậu gieo 10 hạt.

Nhận xét: Qua kết quả bảng 8 cho thấy tỷ lệ mọc mầm ở các công thức có xử lý *Trichoderma viride* rất cao, và tỷ lệ bệnh giảm khác nhau ở các công thức thí nghiệm. Khi xử lý nấm *Trichoderma viride* vào đất sau 5 ngày và 10 ngày rồi gieo hạt có tỷ lệ mọc mầm đạt 90.00% và 96.70%, và 100% hạt không bị nhiễm bệnh. Trong khi đó ở công thức đối chứng chỉ xử lý nấm bệnh *Fusarium oxysporum* tỷ lệ mọc mầm rất thấp chỉ có 60.00% nhưng tỷ lệ bệnh lại rất cao đạt 88.90%. Như vậy hiệu lực đối kháng của nấm *Trichoderma viride* đạt rất cao nếu được xử lý vào đất sớm 5 – 10 ngày trước khi gieo, tỷ lệ nảy mầm của hạt cũng rất cao.

8.2. Hiệu quả phòng trừ bệnh héo vàng cà chua của nấm đối kháng *Trichoderma viride* trong điều kiện nhà lưới.

Để đánh giá mức độ gây hại của nấm *Fusarium oxysporum* chúng tôi tiến hành lây bệnh nhân tạo trên giống cà chua Mỹ VL2200 theo phương pháp trồng trong chậu vại, khi cấy cà chua trồng được 4 tuần tuổi.

Thí nghiệm được tiến hành với 6 công thức:

CT 1: Đối chứng không xử lý nấm bệnh.

CT 2: Xử lý *Fusarium oxysporum*.

CT 3: Xử lý *Trichoderma viride*.

CT 4: Xử lý *Fusarium oxysporum* trước 24h, sau đó xử lý nấm *Trichoderma viride*.

CT 5: Xử lý *Trichoderma viride* trước 24h, sau đó xử lý *Fusarium oxysporum*.

CT 6: Xử lý *Fusarium oxysporum* và *Trichoderma viride* đồng thời
Kết quả được trình bày ở bảng 9.

Bảng 9: Hiệu quả phòng trừ bệnh héo vàng cà chua của nấm đối kháng *Trichoderma viride* trong điều kiện nhà lưới.

Công thức	Số cây lây bệnh	Số cây nhiễm bệnh	TLB (%)	Ngày lây bệnh	Ngày phát bệnh	Thời kỳ tiềm dục	ĐHH (%)
CT 1	9	0	0.00	24/9	0	0	-
CT 2	9	8	88.89	24/9	4/10	10	-
CT 3	9	0	0.00	24/9	0	0	-
CT 4	9	3	33.33	24/9	5/10	11	62.50
CT 5	9	0	0.00	24/9	0	0	100
CT 6	9	0	0.00	24/9	0	0	100

Từ kết quả bảng 9 cho thấy nấm đối kháng *Trichoderma viride* có hiệu quả phòng trừ khá cao đối với nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo vàng. Đặc biệt là đối với những nấm có chu kỳ phát triển chậm, thời kỳ tiềm dục dài như nấm *Fusarium oxysporum* biểu hiện đối với công thức chỉ xử lý nấm *Fusarium oxysporum* kéo dài tới 10 ngày, còn đối với công thức xử lý *Fusarium oxysporum* trước 24h thì thời kỳ tiềm dục kéo

dài tới 11 ngày, hiệu lực phòng trừ có thể lên tới 100% ở công thức xử lý *Trichoderma viride* đồng thời và trước 24 giờ đối với nấm gây bệnh. Còn khi xử lý *Trichoderma viride* sau 24 giờ thì hiệu quả chỉ đạt 62.50%. Như vậy, khi sử dụng nấm đối kháng *Trichoderma viride* ở ngoài thực tế sản xuất, nên áp dụng xử lý chế phẩm này trước khi gieo trồng (khi làm đất) hoặc xử lý hạt giống vào thời điểm trước khi nấm bệnh xuất hiện để tăng hiệu quả phòng trừ.

II. Kết quả nghiên cứu đối với nấm gây bệnh héo vàng trong phòng thí nghiệm.

1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự sinh trưởng của sợi nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA.

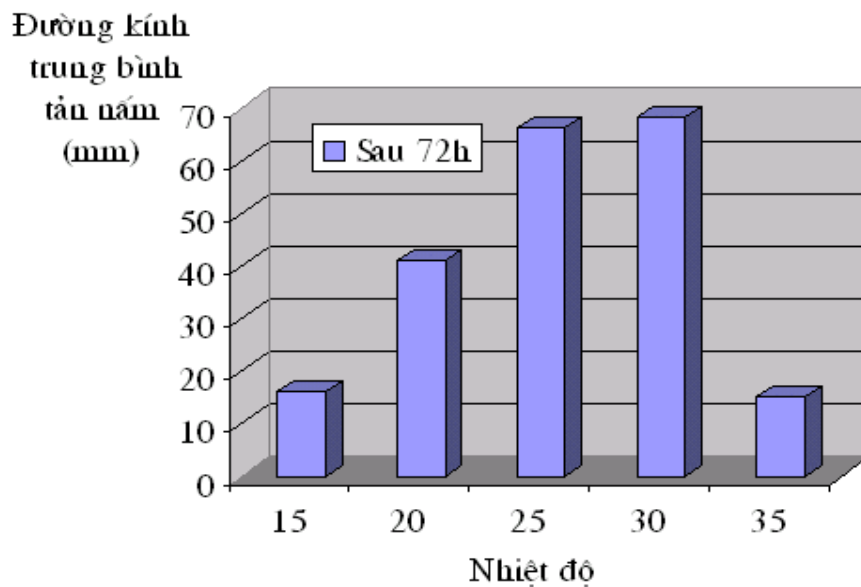
Chúng tôi tiến hành thí nghiệm ở các ngưỡng nhiệt độ khác nhau trong phòng thí nghiệm để nghiên cứu sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển của sợi nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo vàng. Kết quả được trình bày ở bảng 10.

Bảng 10: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự sinh trưởng của nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA.

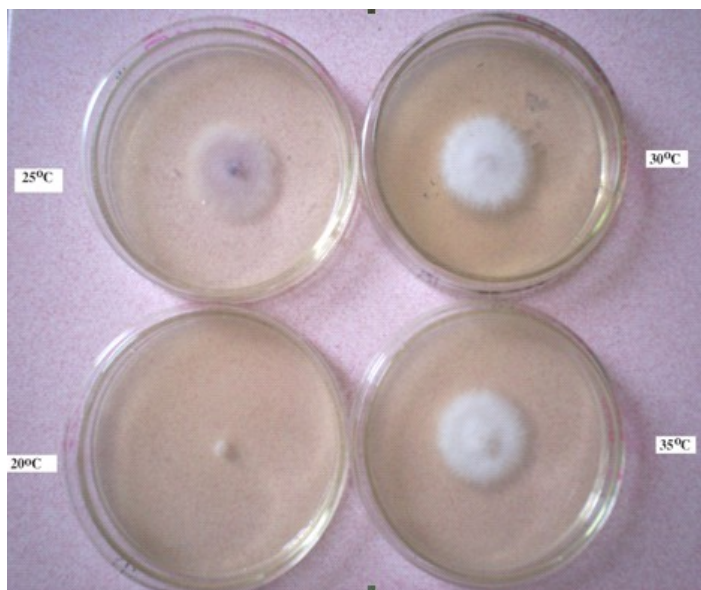
Ngưỡng nhiệt độ (°C)	Đường kính trung bình tản nấm (mm)		
	Sau 24h	Sau 48h	Sau 72h
15°C	2.78	6.00	16.00
20°C	4.35	29.25	41.00
25°C	9.42	41.50	66.20
30°C	4.70	43.03	68.20
35°C	3.03	10.90	15.00

Ghi chú: Đường kính hộp lồng petri = 90 mm.

Qua kết quả bảng 10 cho thấy nấm *Fusarium oxysporum* sinh trưởng tốt nhất ở 25°C và 30°C, Nấm sinh trưởng kém nhất ở nhiệt độ 15°C và 35°C. Sau 72 giờ nuôi cấy đường kính trung bình tản nấm ở ngưỡng nhiệt độ 30°C là cao nhất đạt 68.20 mm, ở ngưỡng nhiệt độ 35°C tản nấm phát triển kém nhất chỉ đạt 15.00 mm, và ở ngưỡng nhiệt độ 15°C đạt 16.00 mm. Như vậy tản nấm *Fusarium oxysporum* có khả năng sinh trưởng ở phạm vi nhiệt độ tương đối rộng và thuận lợi ở ngưỡng nhiệt độ ẩm áp.



Biểu đồ 7: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự sinh trưởng của nấm Fusarium oxysporum trên môi trường PGA sau 72 giờ.



**Ảnh 4: Tản nấm *Fusarium*
ở các nhiệt độ 20;25;30;35°C**

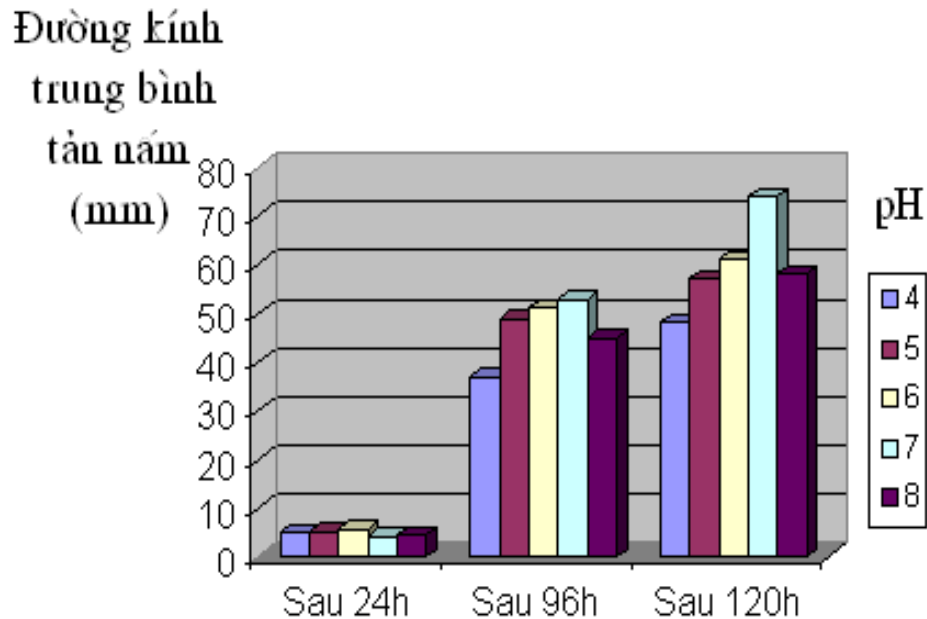
2. Ảnh hưởng của pH môi trường đến sự sinh trưởng của nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA.

Để xác định ảnh hưởng của pH môi trường đến sự sinh trưởng của nấm *Fusarium oxysporum*, chúng tôi đã tiến hành thí nghiệm ở các ngưỡng pH 4, 5, 6, 7, 8 trên môi trường PGA. Kết quả được trình bày ở bảng 11.

Bảng 11: Ảnh hưởng của pH đến sự sinh trưởng của sợi nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA.

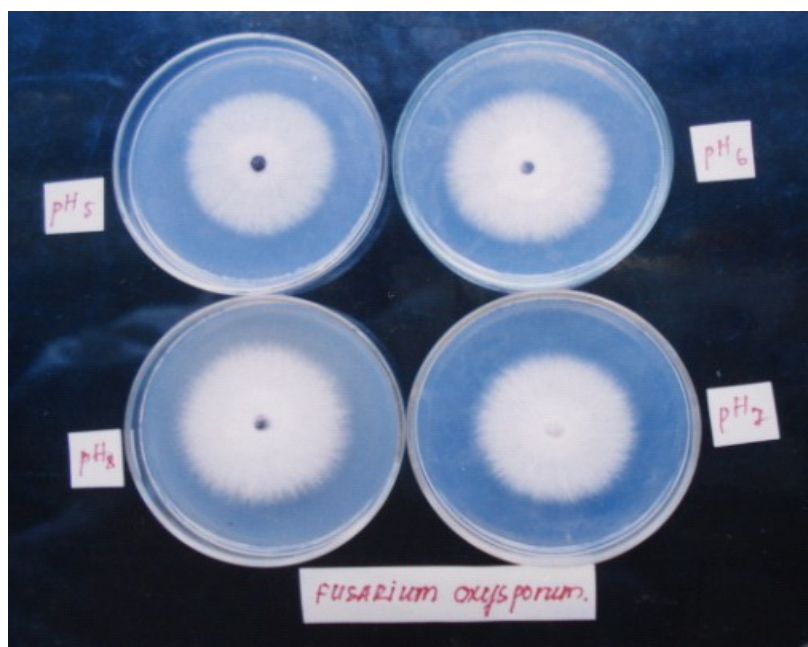
Ngưỡng pH	Đường kính trung bình tản nấm (mm)				
	Sau 24h	Sau 48h	Sau 72h	Sau 96h	Sau 120h
4	4.95	12.03	15.92	37.02	48.13
5	5.23	15.06	21.13	49.00	57.03
6	5.70	19.03	27.00	51.06	61.02
7	4.20	23.03	33.13	53.00	74.00
8	4.67	17.10	29.13	45.06	58.06

Ghi chú: Đường kính hộp lồng petri 90 mm



Biểu đồ 7: Sự sinh trưởng của sợi nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA ở các ngưỡng pH khác nhau.

Qua kết quả bảng 11 cho thấy sau 5 ngày nuôi cấy ở các ngưỡng pH khác nhau có đường kính tân nấm khác nhau. Ở ngưỡng pH 7 sau 120 giờ nuôi cấy đường kính tân nấm đạt 74.00 mm. Ở ngưỡng pH 4 sau 120 giờ nuôi cấy đường kính tân nấm phát triển kém nhất chỉ đạt 48.13 mm, ở ngưỡng pH 6 đường kính trung bình tân nấm đạt 61.02 mm. Như vậy ở pH 7 sợi nấm *Fusarium oxysporum* sinh trưởng phát triển là tốt nhất, tiếp đó là pH 6 sợi nấm cũng phát triển tốt. Còn ở môi trường quá chua như pH 4, pH 5 không những không thích hợp mà còn kìm hãm sự phát triển của nấm *Fusarium oxysporum*, chứng tỏ nấm này có phạm vi pH khá rộng và nấm sinh trưởng thích hợp ở môi trường trung tính.



**Ảnh 5. Ảnh hưởng của pH môi trường
đối với nấm *Fusarium oxysporum***

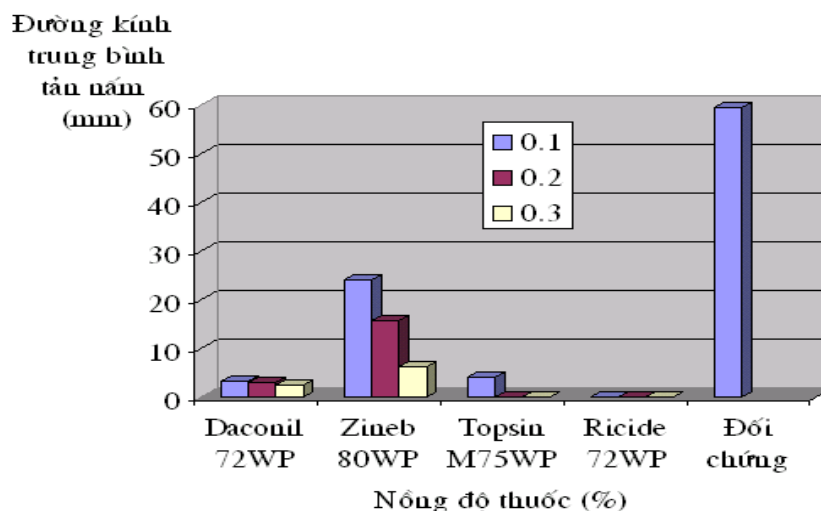
3. Ảnh hưởng của một số loại thuốc hoá học đến sự sinh trưởng của nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA

Chúng tôi tiến hành thí nghiệm khảo sát một loại thuốc hoá học nhằm tìm ra loại thuốc có nồng độ thích hợp để phòng chống nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo vàng. Kết quả thu được trình bày ở bảng 12.

Bảng 12: Ảnh hưởng của một số loại thuốc hoá học đến sự sinh trưởng của nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA.

STT	Loại thuốc – nồng độ (%)	Đường kính trung bình tản nấm (mm)		
		Sau 24h	Sau 48h	Sau 72h
1	Daconil 72WP			
	0,1	0	2.50	3.38
	0,2	0	2.02	3.06

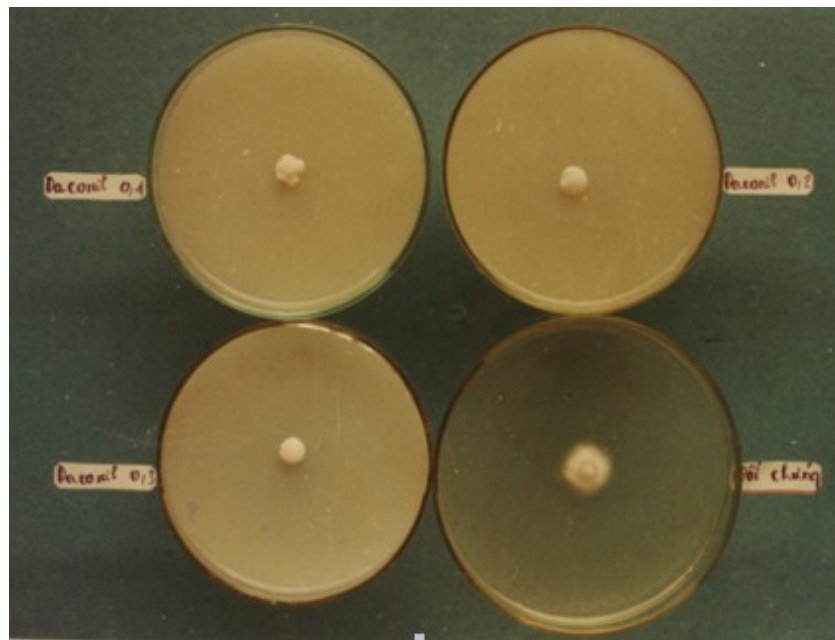
	0,3	0	1.73	2.48
2	Zineb 80WP			
	0,1	3.70	14.06	24.10
	0,2	3.06	10.60	15.70
	0,3	2.00	4.43	6.20
3	Topsin M75WP			
	0,1	1.03	3.13	4.20
	0,2	0	0	0
	0,3	0	0	0
4	Ricide 72WP			
	0,1	0	0	0
	0,2	0	0	0
	0,3	0	0	0
5	Đối chứng (không xử lý thuốc)	6.50	29.03	59.45



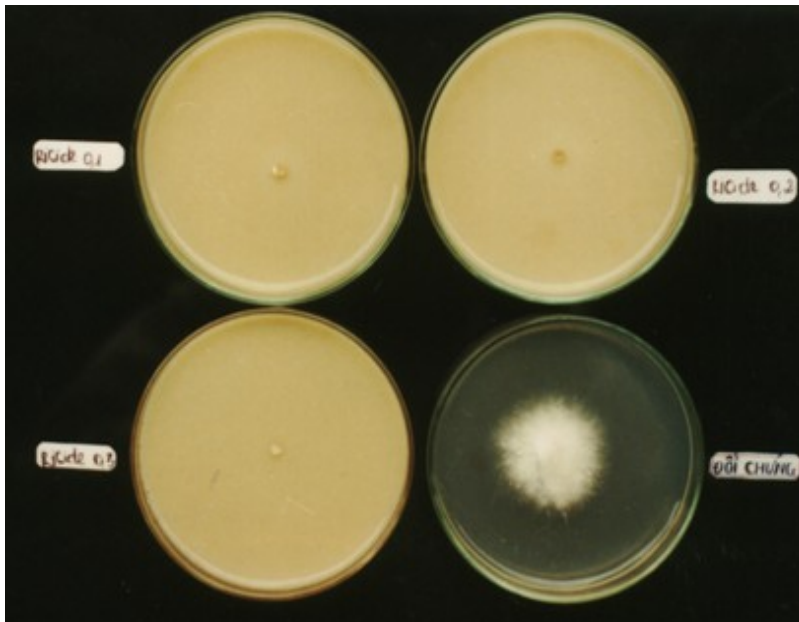
Biểu đồ 8: So sánh hiệu lực của một số thuốc hoá học đối với nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA sau 72 giờ.

Qua kết quả thu được ở bảng 12 chúng tôi thấy sau 72 giờ nuôi cấy trên môi trường PGA có xử lý thuốc Daconil 72WP, Zineb 80WP ở các

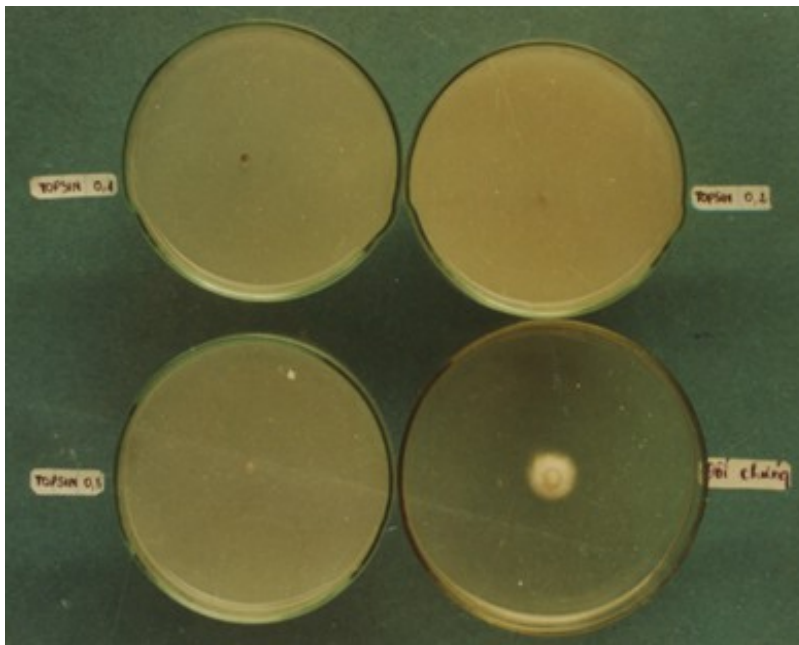
nồng độ 0.1%, 0.2%, 0.3% nấm vẫn mọc được nhưng tản nấm phát triển kém hơn nhiều so với công thức đối chứng, còn môi trường xử lý thuốc Ricide 72WP nấm hoàn toàn không mọc được, thuốc Topsin M75WP nuôi cấy tại nồng độ 0.2% và 0.3% nấm cũng hoàn toàn không mọc được. Như vậy thuốc Ricide 72WP có khả năng ức chế hoàn toàn đến sự phát triển của sợi nấm *Fusarium oxysporum*, thuốc Topsin M75WP ở nồng độ 0.2% và 0.3% cũng có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của sợi nấm *Fusarium oxysporum*. Hai loại thuốc này cần được nghiên cứu đưa vào sản xuất để phòng trừ bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra.



Ảnh 6: Hiệu lực của thuốc Daconil 72WP đối với nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA.



Ảnh 7: Hiệu lực của thuốc Ricide 72WP đối với nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA.



Ảnh 8: Hiệu lực của thuốc Topsin M 75WP đối với nấm

***Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA.**

4. Hiệu lực đối kháng của nấm *Trichoderma viride* đối với nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA.

Do nấm đối kháng *Trichoderma viride* có khả năng ức chế khá tốt đối với một số nấm gây bệnh có nguồn gốc trong đất như nấm *Fusarium oxysporum* nên chúng tôi tiến hành thí nghiệm khảo sát hiệu lực đối kháng của nấm *Trichoderma viride* đối với nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA.

Chúng tôi tiến hành thí nghiệm với 4 công thức.

CT1: *Trichoderma viride* – *Fusarium oxysporum* cấy đồng thời.

CT2: *Fusarium oxysporum* cấy trước *Trichoderma viride* 24 h.

CT3: *Fusarium oxysporum* cấy sau *Trichoderma viride* 24 h.

CT4: *Fusarium oxysporum* cấy độc lập.

Mỗi công thức với 3 lần nhắc lại, khoảng cách giữa 2 điểm cấy 3 cm.

Kết quả thu được trình bày ở bảng 13.

Bảng 13: Hiệu lực đối kháng của nấm *Trichoderma viride* đối với nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA.

Công thức Tr.v – Fus	Đường kính trung bình tản nấm (mm)			ĐHH (%)	
	Sau 24h	Sau 48h	Sau 72h		
CT1	<i>Trichoderma viride</i>	28.83	65.10	80.03	57.70
	<i>Fusarium oxysporum</i>	7.03	15.00	18.83	
CT2	<i>Trichoderma viride</i>	0	20.67	49.42	42.30
	<i>Fusarium oxysporum</i>	10.03	19.42	25.67	
CT3	<i>Trichoderma viride</i>	27.00	70.00	86.20	81.30
	<i>Fusarium oxysporum</i>	0	8.30	8.30	

CT4	<i>Fusarium oxysporum</i>	10.50	25.10	44.50	
-----	---------------------------	-------	-------	-------	--

Ghi chú: Đường kính hộp lồng petri = 90 mm.

Từ kết quả bảng trên cho thấy đối với nấm có chu kỳ phát triển dài như nấm *Fusarium oxysporum* thì khả năng đối kháng của nấm *Trichoderma viride* là rất mạnh. Cụ thể ở công thức 3 (xử lý *Trichoderma viride* trước 24 giờ) nấm *Trichoderma viride* đã ức chế nấm *Fusarium oxysporum* với ĐHH(%) là 81.30%, còn ở công thức 2 khi *Fusarium oxysporum* cấy trước *Trichoderma viride* 24 giờ có ĐHH là 42.20%. Nếu cấy đồng thời *Trichoderma viride* với *Fusarium oxysporum* có ĐHH là 57.70%. Như vậy nếu được chiếm chỗ trước 24 giờ khả năng đối kháng của *Trichoderma viride* là rất mạnh và có hiệu quả cao ức chế nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo vàng.



Ảnh 9: Nấm *T.viride* đối kháng

với nấm *Fusarium oxysporum*

PHẦN 4

KẾT LUẬN – TỒN TẠI VÀ ĐỀ NGHỊ

I. KẾT LUẬN

Qua thời gian thực hiện đề tài “*Nghiên cứu bệnh héo vàng (*Fusarium oxysporum*) hại một số cây trồng cạn vụ hè thu năm 2007 tại vùng Gia Lâm - Hà Nội và thử nghiệm chế phẩm sinh học phòng trừ bệnh*”. Chúng tôi rút ra một số nhận xét và kết luận sau:

1. Bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra thiệt hại đáng kể trên các cơ sở trồng cà chua, đậu tương và một số cây trồng cạn khác thuộc huyện Gia Lâm – Hà Nội.
2. Bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra chịu ảnh hưởng trực tiếp của các giống khác nhau. Khi so sánh trên 3 giống cà chua thí nghiệm thì giống cà chua Mỹ VL2200 nhiễm nặng nhất, còn giống cà chua Ba Lan trắng bị nhiễm bệnh nhẹ nhất.
3. Mật độ trồng cũng ảnh hưởng trực tiếp đến bệnh héo vàng. Ở mật độ trồng dày bệnh hại nặng hơn mật độ trồng thưa.
4. Sự phát triển của bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra trên chân đất cao nhẹ hơn ở chân đất thấp.

5. Biện pháp luân canh cây trồng cạnh với cây trồng nước có tác dụng hạn chế sự phát triển của bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra trên đồng ruộng.

6. Qua thử nghiệm hiệu lực của một số thuốc hoá học đối với nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo vàng trên đồng ruộng cho thấy sau 7 ngày, 14 ngày, 21 ngày trong 3 loại thuốc tiến hành chỉ có thuốc Tilt super 300ND và thuốc Daconil 72WP là có khả năng hạn chế tốt hơn đối với bệnh héo vàng cà chua ngoài đồng ruộng, còn thuốc Zineb 80WP có hiệu lực thấp đối với bệnh héo vàng.

7. Hiệu quả phòng trừ của chế phẩm đối nấm kháng *Trichoderma viride* tốt hơn và nhanh hơn so với thuốc hoá học Rovral 50WP 0.1%.

8. Tìm hiểu liều lượng của chế phẩm *Trichoderma viride* xử lý đất trước khi gieo trồng cho thấy ở liều lượng *Trichoderma viride* (3 – 5 g/1000g phân chuồng) có hiệu quả cao phòng trừ bệnh héo vàng.

9. Nhiệt độ thích hợp nhất cho nấm *Fusarium oxysporum* sinh trưởng và phát triển là 25°C – 30°C và pH môi trường thích hợp nhất là từ 6 - 7.

10. Thông qua thí nghiệm thử hiệu lực của một số loại thuốc hoá học trong phòng thí nghiệm đối với nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo vàng cho thấy thuốc Topsin M75WP và Ricide 72WP có hiệu lực cao ức chế nấm gây bệnh.

11. Thử khả năng đối kháng của nấm *Trichoderma viride* đối với nấm *Fusarium oxysporum* trên môi trường PGA cho thấy nếu nấm *Trichoderma viride* được chiếm chỗ trước 24 giờ cho khả năng ức chế cao nấm gây bệnh.

II. TỒN TẠI

Do thời gian thực tập có hạn, mặt khác điều kiện vật tư thí nghiệm còn gặp nhiều khó khăn, nên những kết quả thu được của chúng tôi còn rất nhiều hạn chế.

Chúng tôi chưa có điều kiện nghiên cứu trên nhiều giống để tìm hiểu khả năng chống chịu với bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra ngoài sản xuất.

III. ĐỀ NGHỊ

Trong thời gian tới chúng tôi đề nghị tiếp tục đi sâu nghiên cứu bệnh héo vàng do nấm *Fusarium oxysporum* gây ra ngoài đồng ruộng, trên nhiều giống cây trồng khác nhau. Đặc biệt đi sâu nghiên cứu áp dụng biện pháp sinh học để phòng trừ bệnh trong sản xuất. Chúng tôi hy vọng những kết quả nghiên cứu thu được ở trên có đóng góp một phần vào công tác nghiên cứu các tác nhân gây bệnh nấm truyền qua đất và một số biện pháp phòng trừ hiệu quả đối với các tác nhân này trên cây trồng.

PHẦN 5

TÀI LIỆU THAM KHẢO

I. TÀI LIỆU TIẾNG VIỆT

1. Đường Hồng Dật (1979). Tìm hiểu về khoa học bệnh cây. NXB nông nghiệp, Hà Nội.
2. Đường Hồng Dật, Sổ tay bệnh hại cây trồng. NXB Nông Nghiệp, Hà Nội.
3. Trần Quang Hùng (1995), Thuốc bảo vệ thực vật, NXB Nông Nghiệp, Hà Nội.
4. Phạm Văn Lâm (1996), Biện pháp sinh học phòng chống dịch hại nông nghiệp, NXB Nông Nghiệp, Hà Nội.
5. Vũ Triệu Mân – Lê Lương Tế, 2001. Giáo trình bệnh cây nông nghiệp. NXB nông nghiệp, Hà Nội.
6. Phương pháp nghiên cứu BVTV(tập 1),1997. NXB Nông Nghiệp, Hà

Nội.

7. Phạm Chí Thành (1992), Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng. Giáo trình cao học nông nghiệp. NXB Nông Nghiệp, Hà Nội.

8. Nguyễn Kim Vân (2001), “Nghiên cứu một số bệnh héo rũ thối gốc do nấm hại cây trồng cận vùng Hà Nội năm 2000”, Tạp chí BVTV số 181 tháng 1/2002 trang 14 – 17.

9. Nguyễn Kim Vân (2002) “Nghiên cứu một số bệnh héo rũ thối gốc do nấm hại cây trồng cận vùng Hà Nội năm 2000”. Tạp chí BVTV số 181 tháng 1/2002 trang 14-17

10. Nguyễn Kim Vân, Đỗ Tấn Dũng (2006) Một số nghiên cứu về nguyên nhân gây bệnh hại cây trồng có nguồn gốc trong đất và nấm đối kháng *Trichoderma viride* trong phòng chống bệnh”. Báo cáo khoa học hội thảo “khoa học công nghệ quản lý nông học vì sự phát triển nông nghiệp bền vững ở Việt Nam”. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội

11. Viện bảo vệ thực vật. Tuyển tập công trình nghiên cứu khoa học (1990 – 1995). NXB nông nghiệp, Hà Nội.

12. Nguyễn Văn Viên, 1999. Nghiên Cứu về bệnh hại cà chua tại vùng Hà Nội và phụ cận.

II. TÀI LIỆU NƯỚC NGOÀI

1. Burgess L. W. Summerll. Bullock. Gott and Bakchouse, 1994. Laboratory Manual for fusarium bred. Edition University of Sydney, 1994.

2. Booth, C, 1997. The genas Fusarium. Common wealth. Mycological institute, keww, Surrey, England.

3. Burgess L. W. Backhouse and summerll,1995. Biology and contral of diseases caused by soiborne, Fungal pathogens.

4. Burgess, L. W and Summerll. B.A,1992. Mycogeography of fusarium: survey of Fusarium species from subtropical and – arid grassland soils from Queensland, Australia. Mycological research 96: 48 – 484.
5. Burgess L. W., Nelson. P.E & Summerll. B.A, 1989. Variability and stability of morphological characters in Fusarium oxysporum. Mycologia 81: 818 – 811.
6. Burgess L.W., 1981. General Ecology. Fusarium. Diseases, biology and Taxonomy. The Pennsylvania state university press, University park.
7. Goroton W.L, 1960. The Taxonomy and habitats of Fusarium species from tropical and temperate regions caralian Journal Botany 38: 643 – 658.
8. Jarvis W.R & Shoemaker R. A,1978. Taxonomic status of Fusarium oxysporum causing foot and root rot of tomato. Phytopathology 68: 1979 – 1960.
9. Larkin. R. P., Hopkins, and F. N. Martin, 1993. Ecology of fusarium oxysporum F.sp, niveum in soil suppressive and conducive to fusarium wilt of watermelon. The American phytopathological society, 1993.
10. Paul E.Nelson. Tousson T.A., Burgess L.W, 1987. Characterization of fusarium beomiforme sp. Now (by the New York Botanical Garden, Bronx, My 10484.