

# TUYÊN CHỌN CÁC CHỦNG VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG NẤM *FUSARIUM OXYSPORUM* GÂY BỆNH HÉO TRÊN LẠC VÀ VÙNG

Nguyễn Thị Kim Thoa  
Nguyễn Văn Hoàn  
Trần Quang Minh  
Lê Như Kiều

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh héo cây trồng do nấm *Fusarium oxysporum* (*Fusarium wilt disease*) gây ra là một trong những loại bệnh phổ biến và nguy hiểm gây thiệt hại lớn cho nhiều loại cây trồng. Do phổ ký chủ rộng, nó có thể xâm nhiễm ký sinh gây hại trên nhiều họ cây trồng khác nhau, trong đó có nhiều loại cây trồng đặc biệt có giá trị như lạc, vùng, cà chua, khoai tây v...v...

Việt Nam là nước nhiệt đới khí hậu nóng ẩm là điều kiện lý tưởng để nhiều loại mầm bệnh phát triển mạnh, đặc biệt là bệnh héo do nấm. Bệnh bùng phát nghiêm trọng ở nhiều vùng chuyên canh cây công nghiệp ngắn ngày như lạc và vùng ở Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, Quảng Bình, Quảng Ngãi, Bắc Giang, Bắc Ninh, Vĩnh Phú...v...v... Ước tính thiệt hại cho sản xuất cây trồng do nấm *F.oxysporum* gây ra khoảng 5-12%. Mặc dù đã áp dụng nhiều biện pháp kỹ thuật canh tác nhằm giảm thiểu mức độ thiệt hại như thay đổi cơ cấu mùa vụ, sử dụng giống cây trồng ít mầm cảm, tuy nhiên hiệu quả đạt được lại rất thấp do bản thân mầm bệnh có thể tồn tại trong môi trường một thời gian rất dài, khi gặp điều kiện thuận lợi sẽ bùng phát trở lại.

Các biện pháp sử dụng hóa chất trong bảo vệ thực vật cũng đã được sử dụng rộng rãi và đã mang lại những hiệu quả nhất định, nhưng lại gây tác động xấu đến môi trường, làm mất hoặc giảm các loại sinh vật có ích, đồng thời gây ảnh hưởng xấu đến sức khỏe con người. Chính vì vậy, việc thay thế thuốc bảo vệ thực vật hoá học bằng các chế phẩm sinh học có nguồn gốc từ vi sinh vật đối kháng trong phòng trừ sâu, bệnh hại cây trồng nói chung và bệnh do nấm *F.oxysporum* nói riêng là rất cần thiết, vì nó không những có khả năng khắc phục được những hạn chế của thuốc hoá học bảo vệ thực vật mà còn không ảnh hưởng đến môi trường và sức khỏe con người.

Do đó, hướng nghiên cứu sử dụng vi sinh vật đối kháng để sản xuất chế phẩm sinh học trong bảo vệ cây trồng có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao, là hướng đi rất đúng đắn, đặc biệt đối với các nước đang phát triển như Việt Nam và có tác động to lớn đối với chiến lược phát triển một nền nông nghiệp hữu cơ xanh, sạch, an toàn và bền vững.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Mẫu cây lạc và vùng có biểu hiện triệu chứng bệnh héo điển hình do nấm gây ra được thu từ các tỉnh Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, Quảng Bình, Quảng Ngãi, Bắc Giang, Bắc Ninh và Vĩnh Phú.

Vi khuẩn đối kháng được phân lập từ những mẫu cây lạc, vùng khô và đất thu tại những vùng có bệnh và không có triệu chứng của bệnh héo.

Hóa chất và dụng cụ của Bộ môn Vi sinh vật - Viện Thổ nhưỡng Nông hóa.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp thu mẫu và phân lập nấm *F.oxysporum* gây bệnh héo trên lạc, vùng theo [http://carroll1.cc.edu/~jclausz/msamanual/kochpostulat\\_e.html](http://carroll1.cc.edu/~jclausz/msamanual/kochpostulat_e.html) [4].

- Phương pháp phân lập vi khuẩn đối kháng theo Geels and Schippers, 1983 [2].

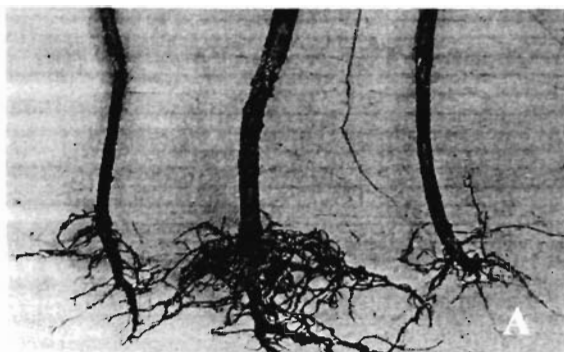
- Phương pháp nghiên cứu hoạt lực đối kháng của vi khuẩn với nấm gây bệnh theo Ownley, B. H. and Windham, M, 2003 [3].

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Khảo sát bệnh héo lạc và vùng do nấm *F.oxysporum* ở một số tỉnh

Vùng được trồng chủ yếu ở vụ thu ở các tỉnh miền Trung như: Nghệ An, Thanh Hóa và Hà Tĩnh. Đặc biệt ở Nghệ An diện tích vùng khoảng 5.580 ha. Hình ảnh ruộng vùng bị héo đồng loạt thể hiện ở ảnh 1B.

Triệu chứng: nấm *F.oxysporum* gây hại ở rễ và cổ rễ giáp mặt đất. Trên cổ rễ lúc đầu có vết nhỏ màu nâu sau chuyển nâu đen và lan rộng bao quanh phần vỏ cổ rễ, vỏ bị thối khô, nứt và bong tróc ra để lộ phần gỗ phía trong. Nấm có thể ăn sâu vào thân làm thân bị khô đen, các rễ phía dưới cũng bị thối đen (ảnh 1A). Cây mới bị bệnh có biểu hiện sinh trưởng kém, lá bị vàng và rụng dần dần, nếu cây còn nhỏ có thể bị chết khô hoàn toàn (ảnh 1B). Cây bệnh dễ bị đổ ngã do bộ rễ đã bị thối toàn bộ.



Ảnh 1. Rễ và cây vùng bị nhiễm bệnh héo do nấm *F.oxysporum*

Qua khảo sát kết quả đánh giá tỉ lệ vùng bị nhiễm bệnh héo do nấm *F.oxysporum* ở một số tỉnh miền Bắc và Trung Việt Nam được thể hiện ở bảng 1.

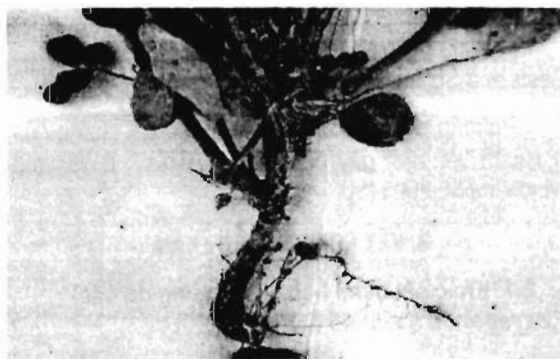
Bảng 1. Tỷ lệ (%) vùng bị bệnh héo ở một số tỉnh miền Bắc và Trung Việt Nam

TT	Địa điểm thu mẫu	Cây trồng	Thời gian thu mẫu	Bệnh điều tra
				Héo do nấm
1	Xã Tân Lộc - Can Lộc - Hà Tĩnh	vùng	10/04/07	11 %
2	Xã Thạch Ngọc - Thạch Hà - Hà Tĩnh	vùng	11/04/07	9 %
3	Xã Tân Thành - Yên Thành - Nghệ An	vùng	12/04/07	12 %
4	Xã Nghi Lâm - Nghi Lộc - Nghệ An	vùng	12/04/07	10 %
5	Xã Thành Trục - Thạch Thành - Thanh Hóa	vùng	13/04/07	7 %
6	Xã Hải Châu - Tĩnh Gia - Thanh Hóa	vùng	13/04/07	12 %
7	Xã Nam Sơn - Sóc Sơn - Hà Nội	vùng	14/04/07	3 %

Tỉnh là 9-11% và thấp nhất là Hà Nội khoảng 3%.

Việt Nam có diện tích trồng lạc khoảng 290.000 ha, năng suất bình quân đạt 26,5-27,0 tạ/ha. Theo điều tra ở Nghệ An có tỷ lệ héo lạc do nấm *F.oxysporum* chiếm khoảng 10%.

Kết quả bảng 2 cho thấy, tỷ lệ bệnh héo lạc do nấm *F.oxysporum* năm 2007 của Nghệ An, Thanh Hóa và Vĩnh Phúc là 8-10%, Hà Nội có tỉ lệ bệnh thấp nhất khoảng 1%. Tỷ lệ bệnh héo lạc và vùng do nấm *F.oxysporum* thay đổi theo từng tỉnh được khảo sát. Hiện tượng này có thể do sự sai khác về tiểu vùng khí hậu và thành phần thổ nhưỡng nên đã ảnh hưởng tới sự bùng phát bệnh khác nhau. Bên cạnh nấm *Fusarium*, những nấm đất khác như *Rhizoctonia*, *Sclerotium* cũng có thể gây hại cho cây trồng.



Ảnh 2. Cây lạc bị bệnh héo do nấm *F.oxysporum*

Kết quả cho thấy, tỷ lệ bệnh héo vùng do nấm năm 2007 của Nghệ An là 10-12%, Thanh Hoá là 7-12%, Hà

Bảng 2. Tỷ lệ (%) cây lạc bị bệnh héo ở một số tỉnh miền Bắc và Trung Việt Nam

TT	Địa điểm thu mẫu	Cây trồng	Thời gian thu mẫu	Bệnh điều tra
				Héo do nấm
1	Xã Thạch An-Thạch Thành - Thanh Hóa	lạc	15/01/07	8 %
2	Xã Hải Hoà- Tĩnh Gia - Thanh Hóa	lạc	15/01/07	10 %
3	Xã Nghi Lâm - Nghi Lộc - Nghệ An	lạc	17/01/07	10 %
4	Xã Minh Thành- YênThành - Nghệ An	lạc	17/01/07	8 %
5	Xã Vĩnh Quỳnh- Thanh Trì - Hà Nội	lạc	05/02/07	< 1 %
6	Xã Nam Sơn - Sóc Sơn - Hà Nội	lạc	06/02/07	< 1 %
7	Xã Tiến Phong- Mê Linh -Vĩnh Phúc	lạc	27/02/07	10 %

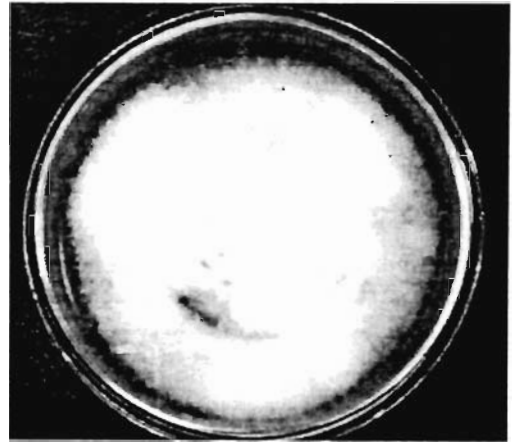
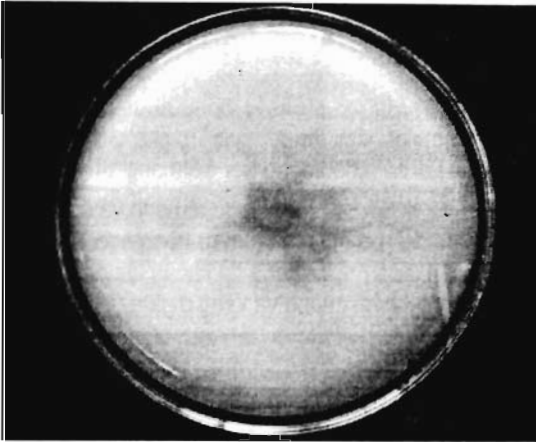
### 3.2. Thu mẫu và phân lập nấm *F.oxysporum* gây bệnh

Nấm *F.oxysporum* sản sinh ra hai loại bào tử là đại bào tử và tiểu bào tử. Đại bào tử có dạng dài, hai đầu nhọn, có dạng cong như lưỡi liềm, không màu, có 3-4 vách ngăn. Tiểu bào tử có hình trứng, không có hoặc có vách ngăn, không màu, nấm phát triển thích hợp ở điều kiện nhiệt độ là 30°C. Bào tử tồn tại rất lâu trong đất, xâm nhập vào rễ cây hoặc cổ rễ qua các vết xây xát do bị gió lay hoặc côn trùng trong đất cắn phá, vết xước trên bề mặt rễ hoặc tại các điểm hình thành rễ

bên [1], điều kiện đất cát dễ bị thiệt hại hơn so với điều kiện đất thịt.

Bảng 3. Danh sách các chủng *F.oxysporum* đã phân lập

STT	Ký hiệu chủng	Nguồn gốc	Địa điểm thu mẫu
1	L <sub>1</sub>	cây lạc	Sóc Sơn - Hà Nội
2	L <sub>2</sub>	cây lạc	Đại Lải - VĩnhPhúc
3	L <sub>3</sub>	cây lạc	Thọ Xuân - Thanh Hóa
4	V <sub>1</sub>	cây vừng	Nghi Lộc - Nghệ An
5	V <sub>2</sub>	cây vừng	Tĩnh Gia - Thanh Hóa



Ảnh 3. Sợi nấm *F.oxysporum* trên môi trường PDA

Trong quá trình khảo sát các vùng có nhiễm bệnh do nấm *F.oxysporum* chúng tôi đã thu thập được 24 mẫu cây bệnh điển hình tại các tỉnh: Vĩnh Phúc, Hà Nội, Nghệ An và Thanh Hóa. Mẫu thu ngày nào được xử lý ngay ngày hôm đó để tránh giảm sức sống của nấm bệnh. Từ các mẫu cây bệnh chúng tôi đã phân lập và làm thuần được 5 chủng nấm (L<sub>1</sub>; L<sub>2</sub>; L<sub>3</sub> có nguồn gốc

từ cây lạc và V<sub>1</sub>; V<sub>2</sub> có nguồn gốc từ cây vừng). Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Khuẩn lạc nấm *F.oxysporum* phát triển tốt trên môi trường PDA ở nhiệt độ từ 25-30°C. Khuẩn lạc có màu tím đỏ và được bao phủ bởi một hệ sợi nấm trắng hồng (ảnh 3).



Ảnh 4. Hình dạng bào tử các chủng *F.oxysporum* đã phân lập

Sau khi nuôi cấy trong môi trường và nhiệt độ thích hợp khoảng 4-5 ngày các chủng nấm này bắt đầu sinh bào tử, các bào tử có nhiều hình dạng, có loại chỉ có 1

vách ngăn, có loại 2 vách ngăn và có loại 3 hoặc 4 vách ngăn (ảnh 4). ban đầu có từ 1-2 vách ngăn, đến ngày 7-8 các bào tử này sẽ phát triển thành 3-5 vách ngăn.

### 3.3. Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn đối kháng

Đã thu thập bộ rễ của những cây hành, cà chua, vừng và lạc còn khỏe tại những vùng có bệnh và không có bệnh héo. Và đã tiến hành phân lập, tuyển chọn được 5 chủng vi khuẩn có hình dạng, màu sắc khuẩn

lạc cũng như một số đặc tính sinh học khác cho thấy chúng có khả năng đối kháng. Sau khi nuôi cấy 24h trên môi trường KB (King B), các chủng này được đánh giá khả năng đối kháng với các chủng *F.oxysporum* mới được phân lập. Kết quả được thể hiện ở bảng 4.

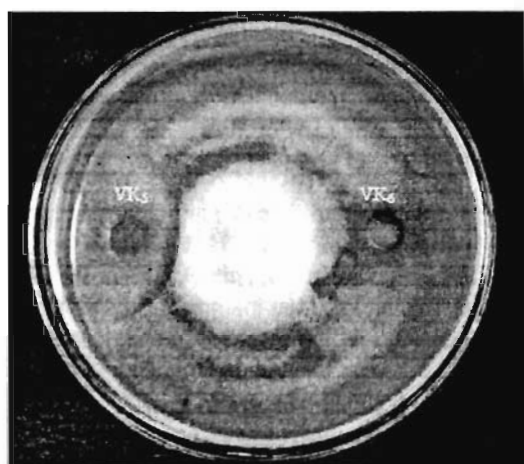
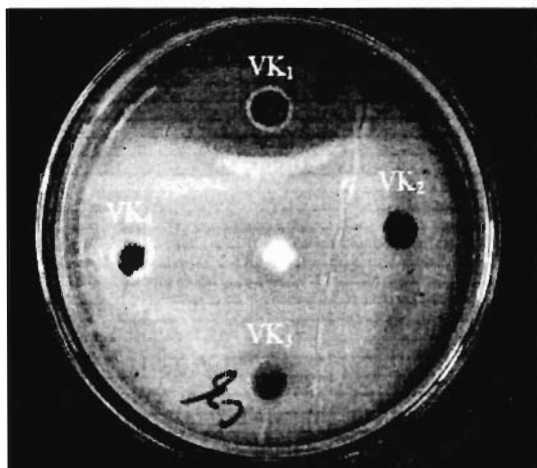
Bảng 4. Kích thước vòng ức chế của các chủng vi khuẩn đối kháng với chủng *F.oxysporum*

STT	Chủng vi khuẩn đối kháng	Đường kính vòng ức chế các chủng <i>F.oxysporum</i> (mm)				
		L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>
1	vk1	14	15	15	15	15
2	vk2	-	-	-	-	-
3	vk3	-	-	-	-	-
4	vk4	-	-	-	-	-
5	vk5	14	14	14	14	14

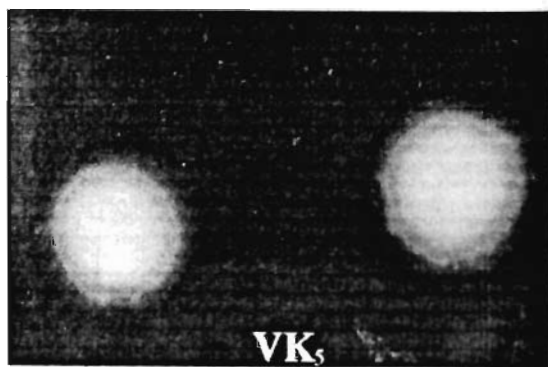
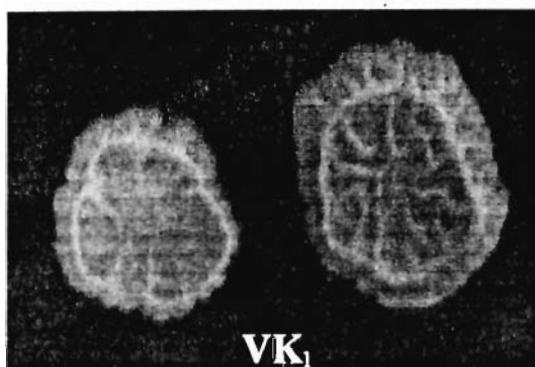
Kết quả ở bảng 4 và ảnh 5 cho thấy, 2 chủng vi khuẩn vk1 và vk5 có khả năng ức chế mạnh sự phát triển của nấm *F.oxysporum*, trong khi đó 3 chủng vk2, vk3 và vk4 không thể hiện tính đối kháng. Hoạt lực đối kháng của mỗi chủng vi khuẩn với các chủng nấm *F.oxysporum* khác nhau là không đổi và hoạt lực đối kháng của các chủng vi khuẩn với cùng một chủng nấm

*F.oxysporum* thì có sự khác nhau nhưng không đáng kể, đường kính kích thước vòng ức chế của các chủng vi khuẩn với nấm dao động trong khoảng 14-15mm.

Chủng vk1 được phân lập từ rễ hành và có hình thái khuẩn lạc dẹt, bề mặt nhẵn, màu trắng ngà, chủng vk5 được phân lập từ rễ cà chua thì khuẩn lạc nhầy có màu trắng xanh ở xung quanh và vàng ở giữa.



Ảnh 5. Hoạt lực ức chế của các chủng vi khuẩn với nấm *F.oxysporum*



Ảnh 6. Đặc điểm hình thái của 2 chủng vi khuẩn đối kháng trên môi trường KB

Theo hình thái khuẩn lạc và một số đặc điểm sinh học thì chủng vk1 được đánh giá sơ bộ là thuộc chi *Bacillus*, chủng vk5 thuộc chi *Pseudomonas*, điều đó chứng tỏ rằng ở trong cùng một vùng sinh thái, hoặc ở

các vùng sinh thái khác nhau đều có những chủng vi khuẩn đối kháng khác nhau với những đặc điểm hình thái và hoạt tính đối kháng mạnh hoặc yếu khác nhau.

Bảng 5. Hình thái khuẩn lạc điển hình của các chủng vi khuẩn đối kháng

STT	Ký hiệu chủng	Nguồn gốc	Hình thái, màu sắc khuẩn lạc	Phân loại (chi)
1	vk1	rễ hành	đẹt, mặt nhẵn, trắng ngà	<i>Bacillus</i>
2	vk5	rễ cà Chua	nhảy, trắng xanh	<i>Pseudomonas</i>

Từ bảng 4 và ảnh 6 cho thấy, từ những mẫu thu thập khác nhau đã phân lập được những chủng vi khuẩn đối kháng khác nhau với hình thái và màu sắc hoàn toàn khác nhau. Những chủng vi khuẩn đối kháng này sẽ được nghiên cứu và sử dụng để sản xuất chế phẩm sinh học phòng trừ bệnh do nấm *F.oxysporum* trên cây trồng có hiệu quả cao trong tương lai.

#### 4. KẾT LUẬN

Đã khảo sát, điều tra tình hình bệnh héo do nấm *F.oxysporum* năm 2007 cho thấy: tỷ lệ bệnh héo vùng

của Nghệ An là 10-12%, Thanh Hoá là 7-12%, Hà Tĩnh là 9-11% và thấp nhất là Hà Nội khoảng 3%. Tỷ lệ bệnh héo lạc của Nghệ An, Thanh Hóa và Vinh Phúc là 8-10%, Hà Nội có tỷ lệ bệnh thấp nhất khoảng 1%. Đã phân lập, tuyển chọn được 5 chủng nấm *F.oxysporum* gây bệnh héo lạc và vừng từ các nguồn mẫu bệnh khác nhau ở các tỉnh miền Bắc. Và chủng vi khuẩn vk1 (thuộc chi *Bacillus*) và vk5 (thuộc chi *Pseudomonas*) có hoạt tính đối kháng mạnh với nấm *F.oxysporum* gây bệnh héo cây trồng, đây là những chủng vi khuẩn có tiềm năng trong sản xuất chế phẩm sinh học bảo vệ cây trồng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agrios, G.N. 1988. Plant Pathology, 3rd. ed. Academic Press, Inc.: New York. 803pp.  
 2. Geels and Schippers. (1983), Section of Antagonistic Fluorescent *Pseudomonas* sp. And their Root Colonization and Persistence following Treatment of Seed Potato, Phytopath.Z,108,pp. 193-206.

3. Ownley, B. H. and Windham, M. (2003). Biological control of plant pathogens. Pages 323-332 in: Plant Pathology: Concepts and Laboratory Exercises. R. Trigiano, M. Windham, and A. Windham, eds., CRC Press, Boca Rotan, FL.

4. <http://carroll1.cc.edu/~iclausz/msamannual/kochpostulate.html>

#### Summary

### SELECTION BACTERIA AGAINST *FUSARIUM OXYSPORUM* WHICH CAUSED WILT DISEASE ON GROUNDNUT AND SESAME

Nguyen Thi Kim Thoa  
 Nguyen Van Huan  
 Tran Quang Minh  
 Le Nhu Kieu

*Fusarium* wilt disease is one of the most popular diseases and dangerous, that caused serious productivity losses of many crops. Although he has used many farming techniques but the effect is still very low, because the germs can viable for a long time in the soil, that will to break out again when environmental condition become advantage. The measures using chemical to restrict the wilt disease have popular applied and have had a few the effect but it also brought out bad effects to the environment. So, the isolation and collection bacteria that can inhibit *Fusarium* to produce the bio-product to replace the chemical to protect crops from the wilt disease in general and *Fusarium* wilt disease in separate is very necessary, because it is not bad effect to the environment, to guarantee quality of agricultural products, to create one background for the clean agricultural foundation,

suitable to demand the fact of society today. In this study, we investigated the *Fusarium* wilt disease in 2007 showed: ratio of wilt disease on sesame in Nghe An is 10-12%, Thanh Hoa is 7-12%, Ha Tinh is 9-11% and Ha Noi is lowest about 3%. Ratio of wilt disease on groundnut in Nghe An, Thanh Hoa and Vinh Phuc is 8-10%, Ha Noi is lowest about 1% and isolated 5 *Fusarium* isolates from the different disease samples and 2 bacteria isolates vk1 (*Bacillus*), vk5 (*Pseudomonas*) that can inhibit strongly the *Fusarium* wilt disease on the groundnut and sesame. These bacterial isolates have potentiality to produce the bio-product to protect the crops.

**Keywords:** Antagonistic bacteria, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* wilt disease