

TUYỂN CHỌN CÁC VI KHUẨN ĐỐI KHÁNG KIỂM SOÁT NẤM *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Tr4 GÂY BỆNH HÉO VÀNG TRÊN CHUỐI TẠI LONG AN

Võ Thị Ngọc Hà*

Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: ha.vothingoc@hcmuaf.edu.vn

Nhận bài: 18/03/2025 Hoàn thành phần biên: 26/04/2025 Chấp nhận bài: 28/04/2025

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Tr4 được phân lập và định danh bằng đặc điểm hình thái và khả năng sinh chất thơm. Khả năng đối kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (Foc) Tr4 chủng LA01 của các vi khuẩn *Bacillus* spp. và *Pseudomonas* spp. được đánh giá thông qua phương pháp cấy kép và khuếch tán giếng thạch. Khả năng sinh enzyme chitinase, protease của hai chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 được đánh giá, tác động của dịch nổi nuôi cấy hai chủng vi khuẩn này đến sự phát triển của sợi nấm, sự nảy mầm bào tử. Từ năm mẫu bệnh phân lập được 3 chủng nấm LA01, LA02 và LA03. Sợi nấm màu trắng mọc nổi trên mặt thạch, ở tâm sợi nấm màu vàng nhạt, ra gân rìa có màu trắng. Bào tử đỉnh nhỏ dạng hình trứng có giọt dầu, bào tử đỉnh lớn hình trắng khuyết hoặc hình hạt gạo dài có 3 - 4 vách ngăn với kích thước 2,7 - 7,5 $\mu\text{m} \times 2,6 - 11,1 \mu\text{m}$. Tất cả vi khuẩn *Bacillus* spp. và *Pseudomonas* spp. đều có khả năng đối kháng với nấm Foc Tr4 chủng LA01, trong đó có 2 vi khuẩn có hiệu suất đối kháng cao là *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 (65,17%) và ĐHT3 (62,08%) ở 5 ngày sau cấy, đường kính vòng ức chế lần lượt là 10,68 mm và 10,04 mm. Hai chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 có khả năng sinh enzyme chitinase và protease, dịch nổi nuôi cấy hai chủng vi khuẩn này có khả năng làm biến dạng hình thái sợi nấm, ức chế sự nảy mầm bào tử ở thời điểm 24 giờ sau cấy lần lượt là 94,33% và 90%. Kết quả nghiên cứu bước đầu cho thấy hai vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 có tiềm năng ứng dụng trong kiểm soát bệnh héo vàng trên chuối do *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Tr4 gây ra.

Từ khóa: Bệnh héo vàng, Foc Tr4, Vi khuẩn đối kháng, Kiểm soát sinh học

SELECTION OF ANTAGONISTIC BACTERIA FOR THE BIOCONTROL OF *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Tr4 CAUSING FUSARIUM WILT IN BANANAS IN LONG AN

Vo Thi Ngoc Ha*

Nong Lam University of Ho Chi Minh City

*Corresponding author: ha.vothingoc@hcmuaf.edu.vn

Received: 18/03/2025

Revised: 26/04/2025

Accepted: 28/04/2025

ABSTRACT

In this study, *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Tr4 was isolated and identified based on morphological characteristics and its ability to produce volatile organic compounds. The antagonistic activity of *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Tr4 strain LA01 was evaluated using dual culture and agar well diffusion assays. The ability to produce chitinase and protease enzymes of *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 and ĐHT3 were investigated, and the effects of bacterial culture supernatants from these two strains on fungal mycelial growth and spore germination were assessed. Three strains Foc Tr4 involving LA01, LA02, and LA03 were isolated from five disease samples. The mycelium was white, growing on the agar's surface, the colony's center appeared pale yellow, while the edges remain white. The microconidia are small, ovoid, and contain oil droplets, the macroconidia are crescent-shaped or elongated like rice grains, having 3 - 4 septae, measuring 2.7 - 7.5 $\mu\text{m} \times 2.6 - 11.1 \mu\text{m}$. All *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. exhibited antagonistic activity against Foc Tr4 strain LA01, which bacteria CC-FN1.1, and ĐHT3 demonstrated the highest antagonistic activity of 65.17%, and 62.08% respectively at 5 days after inoculation, forming inhibition zones of 10.68 mm and 10.04 mm, respectively. Both strains *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 and ĐHT3 exhibited chitinase and protease enzyme activity, their culture supernatants caused morphological deformations in fungal hyphae and inhibited spore germination by 94.33% and 90% at 24 hours after treatment. These findings suggested that *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1, ĐHT3 had potential for application in the biological control of Fusarium wilt in bananas caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Tr4.

Keywords: Fusarium wilt, Foc TR4, Antagonistic bacteria, Biological control

1. MỞ ĐẦU

Cây chuối già Nam Mỹ (*Cavendish banana* Williams Cavendish) được trồng phổ biến ở các nước Nam Mỹ, Ấn Độ và Philippines. Tại Việt Nam, chuối được trồng tại nhiều khu vực khác nhau với tổng diện tích 150.000 ha, chiếm 19% diện tích cây ăn trái. Một trong những vấn đề gây ảnh hưởng đến việc sản xuất chuối tại Việt Nam, cũng như thế giới là bệnh héo vàng (Trần Ngọc Hùng và cs., 2020; Zheng và cs., 2018). Bệnh héo vàng (Panama) trên cây chuối do nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) và gây hại trên nhiều nhóm chuối (Trần Ngọc Hùng và cs., 2020). Tại Việt Nam *Foc* gồm 3 chủng là (*Foc*) Race 1 (*Foc* 1), *Foc* Race 2 (*Foc* 2) và *Foc* Race 4 (*Foc* 4), trong đó *Foc* 4 gồm hai chủng *Foc* nhiệt đới 4 (*Foc* Tr4) và *Foc* cận nhiệt đới 4 (*Foc* STr4) (Hung và cs., 2018). Nấm *Foc* Tr4 được tìm thấy phân bố ở 19 trong số 135 quốc gia sản xuất chuối và sự lây lan nhanh chóng của nó đã nhận được sự quan tâm to lớn trên toàn cầu trong việc tìm kiếm các phương pháp quản lý hiệu quả (Zheng và cs., 2018).

Biện pháp quản lý bệnh bằng giống kháng đang được sử dụng rộng rãi và đem lại hiệu quả nhất định. Việc luân canh với cây trồng khác như dưa hoặc ngô trong hai năm cũng có tác dụng đáng kể trong ngăn chặn tỷ lệ bệnh héo vàng trên chuối (Trần Ngọc Hùng và cs., 2020). Việc quản lý bằng hóa chất trên chuối đang được áp dụng nhiều nhưng không hiệu quả do tác nhân gây bệnh nấm *Foc* tạo ra bào tử hậu có thành dày, sống lâu trong đất, có khả năng chống lại hóa chất (Shi và cs., 1991). Trong xu hướng phát triển nông nghiệp bền vững, các vi sinh vật có ích đang phát huy tiềm năng trong kiểm soát sức khỏe cây trồng và ứng dụng rộng rãi.

Theo Yadav và cs. (2021) trong thí nghiệm đối kháng kép *Bacillus licheniformis* chủng CSR-D4 có tỷ lệ ức chế

cao (77,59%) đối với mầm bệnh *Foc* Tr4. *Bacillus amyloliquefaciens* YN0904 và *Bacillus subtilis* YN1419 có khả năng ức chế *Foc* Tr4 lần lượt là 79,6% và 81,3% trong điều kiện phòng thí nghiệm và cho hiệu suất kiểm soát bệnh héo vàng ngoài đồng ruộng lần lượt là 82,6% và 85,6% (Fan và cs., 2021). *Bacillus amyloliquefaciens* có khả năng sản sinh các hợp chất thứ cấp, hợp chất dễ bay hơi kiểm soát sự nảy mầm bào tử (Beibei và cs., 2016; Yuan và cs., 2012) hoặc tạo ra IAA và siderophore, thúc đẩy sự phát triển của cây chuối (Zhang và cs., 2014). *Bacillus velezensis* chủng YB9 cũng thể hiện hiệu suất ức chế nấm *Foc* Tr4 là 61,33% (Lê Thị Loan và cs., 2023).

Bên cạnh *Bacillus*, các vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* là các tác nhân kiểm soát sinh học trong chi vi khuẩn *Fluorescent pseudomonas* – vi khuẩn phát huỳnh quang, là nhóm vi khuẩn vùng rễ có khả năng tiết ra nhiều loại kháng sinh ức chế nhiều loại nấm, vi khuẩn gây bệnh trong đất (Palleroni, 1984). Theo Li và cs. (2022), *P. aeruginosa* Gxun-2 có khả năng ức chế đáng kể sự phát triển của *Foc* Tr4.

Xạ khuẩn cũng là một trong những tác nhân sinh học tiềm năng có khả năng kiểm soát nấm *Foc* Tr4 với hiệu suất đối kháng trong điều kiện *in vitro* đạt 54,78% ở chủng VNUA27 (Đình Trường Sơn và cs., 2022), và lên tới 93,20% ở chủng VNUA116 khi được lên men trong điều kiện tối ưu (Nguyễn Thị Thanh Mai và cs., 2024). Dịch nuôi cấy chủng xạ khuẩn VNUA27 làm sợi nấm *Foc* Tr4 bị co lại và biến dạng, đồng thời ức chế khả năng nảy mầm của bào tử (Đình Trường Sơn và cs., 2022).

Những nghiên cứu trên chỉ ra tiềm năng to lớn của vi sinh vật có lợi như *Bacillus* spp. và *Pseudomonas* spp. trong việc quản lý bệnh héo vàng trên chuối. Tuy

nhiên, các nghiên cứu về sử dụng các loại vi khuẩn này trong kiểm soát tác nhân gây bệnh héo vàng tại Việt Nam còn hạn chế, việc tìm kiếm các chủng vi sinh tiềm năng nhằm mục tiêu phát triển chế phẩm sinh học là cần thiết.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các thiết bị gồm: tủ cấy khử trùng (IIAC2 – 4E8, Esco, Singapore), nồi hấp khử trùng (MC40L, ALP, Japan), cân điện tử (PX224, Ohaus, Mỹ), bếp điện, kính hiển vi (CX23, Olympus, Japan), máy lắc (SSL1, Stuart, Anh), máy Nanovue Plus (Anh), máy lắc Vortex - ZX3 (Velp, Ý).

Môi trường sử dụng: PGA (thành phần 1 lít gồm khoai tây 200 g, agar 20 g, đường glucose $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ Trung Quốc 20 g, nước cất 1000 ml); LB (thành phần 1 lít gồm nước cất 1000 ml, peptone 10 g, NaCl 10 g, cao nấm men 5 g, pH 7,0, agar 20 g); MT1 (thành phần 1 lít gồm nước cất 1000 ml, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,01 g, $NaNO_3$ 3,5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 g, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 1,5 g, KCl 0,5 g, Chitosan 10 g, agar 20 g); MT2 (thành phần 1 lít gồm nước cất 1000 ml, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 1 g, $NaNO_3$ 3 g, KCl 0,5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 g, Agar 20 g, CMC 10 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,01 g).

Bộ vi khuẩn *Bacillus* spp. (gồm các chủng CC-LĐ2.4, KT-ĐD1, O-BT3.1, O-ĐT3, ĐXT6) và *Pseudomonas* spp. (gồm các chủng ĐXT1, CC-LĐ2.1, CC-ĐT3, O-BT3.2, ĐHT7, O-BT1.2, SL-DL3, CC-LĐ1.2, O-CC4, ĐHT3, CC-FN1.1) được cung cấp bởi phòng thí nghiệm Bệnh cây, Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Phân lập và định danh nấm gây bệnh héo vàng trên chuối

Mẫu bệnh được thu thập và bảo quản theo phương pháp của Shivas và Beasley (2005). Thu thập tổng số 5 mẫu bệnh tại xã Mỹ Bình, huyện Đức Huệ, tỉnh Long An, mẫu bệnh là các cây chuối già Nam Mỹ trồng từ cây giống nuôi cấy mô có triệu chứng các lá phía dưới bị vàng dần từ bìa lá và lan dần lên các lá phía trên, cuống lá bị gãy, cả phiến lá bị khô, ngọn chuyền có màu xanh nhạt hơi vàng. Kiểm tra bên trong các bẹ phía ngoài có sọc nâu, có mùi hôi, các bẹ non bên trong có sọc vàng. Phân lập nấm bệnh theo mô tả của Burgess và cs. (2016) môi trường WA và cấy chuyền đỉnh sợi nấm 2 - 3 lần trên môi trường PGA. Khi nấm đã thuần tiến hành ghi nhận màu sắc tản nấm và đặc điểm của sợi nấm, quan sát hình thái bào tử nấm gồm hình dạng, số vách ngăn, kích thước bào tử nấm và so sánh với các mô tả của John và Brett (2006) và Trần Ngọc Hùng và cs. (2020) để định danh.

Môi trường tinh bột được chuẩn bị bằng cách cho 30 g gạo và 90 ml nước cất vào bình tam giác thủy tinh (250 ml), hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút và để nguội. Sau đó cấy chuyền nấm sang môi trường tinh bột để phân loại chủng nấm theo mô tả của (Moore và cs., 1995). Ghi nhận màu sắc của môi trường, sự có mặt của chất thơm sau 2 tuần nuôi cấy nấm trên môi trường tinh bột. Nếu nấm tạo ra màu sắc đỏ hoặc tím đậm và không tạo chất thơm trong môi trường nuôi cấy sẽ thuộc về chủng 1,2 còn nếu nấm ra màu sắc tím nhạt hoặc đỏ nhạt và tạo chất thơm trong môi trường nuôi cấy sẽ thuộc về chủng 4. Các mẫu nấm sau đó được chủng bệnh trên cây giống từ cây nuôi cấy mô giống chuối già Nam Mỹ theo quy trình Koch theo mô tả của Trần Ngọc Hùng và cs. (2020) để kiểm chứng tác nhân gây bệnh.

2.3. Khảo sát tính đối kháng của các vi khuẩn với nấm *Foc* Tr4 chủng LA01

Theo phương pháp cấy kép (Ferreira và cs., 1991): Đối với vi khuẩn sử dụng que cấy rìa, cấy vi khuẩn thành 2 đường thẳng song song và cách vị trí đặt thạch nấm 2,5 cm vào đĩa petri có sẵn PGA. Sau đó, tiến hành cấy thạch nấm (đường kính 5 mm) đã được nuôi trong 7 ngày vào tâm đĩa petri. Xác định bán kính hệ sợi nấm R bằng cách lấy trung bình khoảng cách từ tâm khoan nấm tới rìa tản sợi xa nhất và rìa tản sợi gần nhất trên đĩa, sau đó tính hiệu suất đối kháng theo công thức: $AE (\%) = (R-r)/R \times 100$, Trong đó: AE: Hiệu suất đối kháng (%), R: Bán kính hệ sợi nấm trung bình ở nghiệm thức đối chứng (mm), r: Bán kính hệ sợi nấm trung bình ở nghiệm thức chủng vi khuẩn đối kháng (mm). Và phân loại khả năng đối kháng của vi khuẩn theo thang đánh giá của Soyong (1988): AE > 75% khả năng đối kháng rất cao, AE từ 61% – 75% khả năng đối kháng cao, AE từ 51% – 60% khả năng đối kháng trung bình, và AE ≤ 50% khả năng đối kháng thấp.

Theo phương pháp khuếch tán giếng thạch: Nấm *Foc* Tr4 chủng LA01 được cấy trên môi trường PGA 14 ngày ở nhiệt độ $28 \pm 2^\circ\text{C}$ và thu bào tử, điều chỉnh mật độ đến 10^6 bào tử/mL. Vi khuẩn được nuôi lắc 240 vòng/phút trên môi trường LB lỏng trong 48 giờ, ở nhiệt độ $28 \pm 2^\circ\text{C}$ và đưa mật độ vi khuẩn về 10^8 CFU/mL. Sau đó tiến hành thí nghiệm theo phương pháp khuếch tán giếng thạch theo mô tả của Sharma và cs. (2017). Xác định kích thước vòng đối kháng (KTVĐK) theo công thức của Azman và cs. (2017): $KTVĐK (\text{mm}) = D - d$, Trong đó: D là đường kính của vòng đối kháng (mm), d là đường kính lỗ giếng (mm). Tính đối kháng được biểu hiện khi kích thước vòng đối kháng lớn hơn 2 mm. $KTVĐK < 5$ mm: tính kháng yếu, $KTVĐK$ từ 5 đến 10 mm:

tính kháng trung bình, $KTVĐK > 10$ mm: tính kháng mạnh (Azman và cs., 2017).

2.4. Đánh giá tiềm năng sinh enzyme chitinase, protease của vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3

Thực hiện theo phương pháp mô tả bởi Tamrela và cs. (2021) trên môi trường MT1 và MT2, các đĩa đã bổ sung vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 được ủ trong 72 giờ, sau đó cho thuốc thử Lugol 1% vào và để 5 phút rồi đo đường kính vòng phân giải (ĐKVPG) trên đĩa: $ĐKVPG = D - d$, Trong đó D là đường kính vòng phân giải (mm), d: đường kính lỗ giếng (mm). Đánh giá hoạt lực enzyme theo Ray và cs. (2010): $ĐKVPG \geq 13$ mm: hoạt tính enzyme mạnh, $ĐKVPG \geq 10$ mm: hoạt tính enzyme khá mạnh, $ĐKVPG \geq 7$ mm: hoạt tính enzyme trung bình và $ĐKVPG < 7$ mm: hoạt tính enzyme yếu.

2.5. Khảo sát ảnh hưởng của dịch nổi vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 đến sự phát triển của sợi nấm và sự nảy mầm bào tử nấm *Foc* Tr4 chủng LA01

Vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 được nuôi lắc 240 vòng/phút trên môi trường LB lỏng trong 48 giờ ở nhiệt độ phòng và điều chỉnh sao cho mật độ tế bào vi khuẩn đạt 10^8 CFU/mL. Thu dịch nổi vi khuẩn bằng cách ly tâm trong 15 phút với tốc độ 6000 vòng/phút, và khảo sát ảnh hưởng của dịch nổi sau ly tâm các vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 đến sự phát triển của sợi nấm *Foc* Tr4 chủng LA01 theo phương pháp của Yun và cs. (2021). Sử dụng lam kính lõm để khảo sát tác động của dịch nổi các vi khuẩn đến sự nảy mầm bào tử nấm *Foc* Tr4 theo phương pháp mô tả bởi Cronin và cs. (1996). Hiệu suất ức chế sự nảy mầm của bào tử (PSGI) được tính theo công thức $PSGI = \frac{Sc - St}{Sc} \times 100\%$ (Gemedra và cs.,

2014), trong đó: S_c là số lượng trung bình bào tử nảy mầm trong nghiệm thức đối chứng, S_t là số lượng trung bình bào tử nảy mầm ở nghiệm thức thí nghiệm.

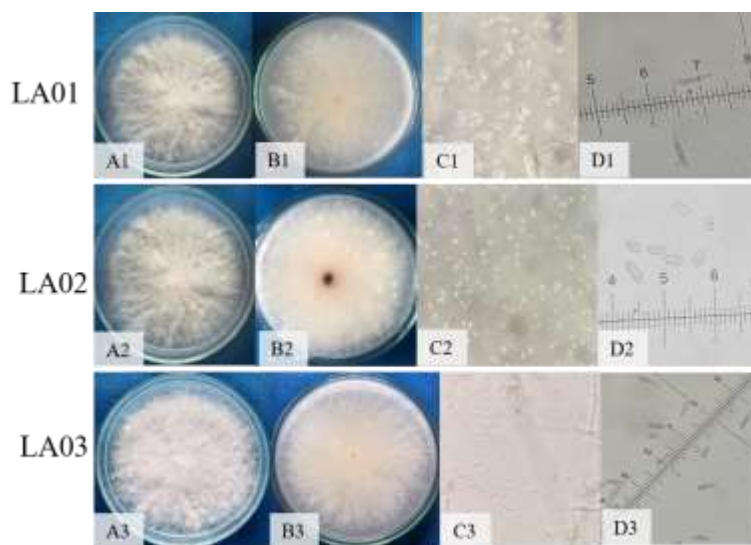
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và định danh nấm gây bệnh héo vàng trên chuối

Từ năm mẫu bệnh thu thập được, đã phân lập được 3 mẫu phân lập tác nhân gây bệnh đặt tên là LA01, LA02 và LA03 với các đặc điểm hình thái đặc trưng trên môi trường PDA sợi nấm mọc nổi trên mặt thạch, ở tâm sợi nấm màu vàng nhạt, ra gần rìa có màu trắng (Hình 1A và B). Bào tử có

– 11,1 μm . Theo khóa phân loại của John và Brett (2006), Trần Ngọc Hùng và cs. (2020) trong giai đoạn nuôi cấy đầu tiên này, với các đặc điểm hình thái đặc trưng này cho phép xác định ba mẫu phân lập LA01, LA02 và LA03 là *Fusarium oxysporum*.

Ba mẫu nấm khi được nuôi cấy trên môi trường tinh bột đều sinh trưởng mạnh mẽ như nhau, tại thời điểm 15 ngày sự thay đổi màu sắc từ trắng sang màu hồng nhạt và dậy mùi thơm như rượu được ghi nhận rõ rệt (Hình 2). Theo Moore và cs. (1993), đặc trưng của nấm gây bệnh héo vàng (Panama) thuộc chủng



Hình 1. Hình thái của ba mẫu phân lập nấm: mặt trước tản sợi (A1, A2, A3), mặt sau tản sợi (B1, B2, B3), hình thái bào tử (C1, C2, C3) và kích thước bào tử (D1, D2, D3) quan sát ở độ phóng đại 40X.

hai dạng là bào tử đỉnh nhỏ dạng hình trứng có giọt dầu (Hình 1C1, C2 và C3), bào tử đỉnh lớn hình trắng khuyết (Hình 1 D1 mẫu LA01 và Hình 1 D3 mẫu LA03) hoặc hình hạt gạo dài (Hình 1 D2 mẫu LA02) có 3 - 4 vách ngăn với kích thước 2,7 – 7,5 $\mu\text{m} \times 2,6$

4 khi nuôi cấy trên môi trường tinh bột là tạo mùi thơm và thay đổi màu sắc từ trắng sang đỏ hoặc hồng nhạt. Kết quả này cho phép khẳng định 3 mẫu phân lập trong nghiên cứu này thuộc chủng 4 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Tr4 (Foc Tr4).



Hình 2. Kết quả nuôi cây các chủng phân lập trên môi trường tinh bột và kết quả chứng bệnh theo quy tắc Koch chủng LA01 (A), chủng LA02 (B) và chủng LA03 (C).

Kết quả chứng bệnh theo quy tắc Koch cho thấy, sau 4 tháng lây nhiễm cây đối chứng không chứng bệnh phát triển bình thường, các cây còn lại với ba mẫu nấm LA01, LA02 và LA03 đều xuất hiện triệu chứng điển hình: các lá cây phía dưới có màu vàng, lá héo ở cấp 4 (Hình 2), cắt ngang thân cây quan sát thấy mạch dẫn màu nâu đỏ. Mẫu nấm được tái phân lập từ cây chuỗi nhiễm bệnh sau khi chứng bệnh có hình thái màu sắc tản sợi và hình thái bào tử tương tự với mẫu nấm ban đầu. Kết quả này chứng minh ba chủng *Foc* Tr4 LA01, LA02 và LA03 là tác nhân gây bệnh héo vàng trên chuỗi tại Long An. Cả ba chủng *Foc* Tr4 LA01, LA02 và LA03 đều thể hiện khả năng gây bệnh tương đương nhau, các cây đều bị bệnh cấp 4 sau 4 tháng lây nhiễm. Do đó, trong các nghiên cứu tiếp theo sử dụng *Foc* Tr4 chủng LA01 đại diện để đánh giá khả năng kiểm soát của các vi khuẩn đối kháng.

3.2. Khả năng đối kháng của các vi khuẩn đối kháng với nấm *Foc* Tr4 chủng LA01

Hình 3 thể hiện khả năng đối kháng của vi khuẩn theo phương pháp cây kép. Theo phương pháp này, các vi khuẩn được đánh giá trong nghiên cứu này đều có khả năng đối kháng với nấm *Foc* Tr4 chủng LA01 (Hình 3), bán kính hệ sợi nấm ở các nghiệm thức cây kép với các vi khuẩn từ 2 NSC đến 5 NSC đều thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng, khác biệt có ý nghĩa thống kê. Khả năng đối kháng của các vi khuẩn với nấm *Foc* Tr4 chủng LA01 dao động từ yếu đến cao, với hiệu suất đối kháng (HSDK) ở thời điểm 5 NSC từ 13,08 % đến 65,17% (Bảng 1). Trong đó nổi bật hai vi khuẩn có khả năng đối kháng cao với nấm *Foc* Tr4 chủng LA01 là *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 với HSDK lần lượt là 65,17% và 62,08%, 4 chủng vi khuẩn có khả năng đối kháng trung bình với nấm *Foc* Tr4 chủng LA01 là *Pseudomonas* spp. CC-LĐ1.2 và O-CC4, *Bacillus* spp. KT-ĐD1 và CC-LĐ2.4 với hiệu suất đối kháng lần lượt là 52,25%; 54,71%; 56,67% và 57,29% (Bảng 1).

Bảng 1. Bán kính hệ sợi nấm và hiệu suất đối kháng (HSDK) của vi khuẩn trong điều kiện in vitro

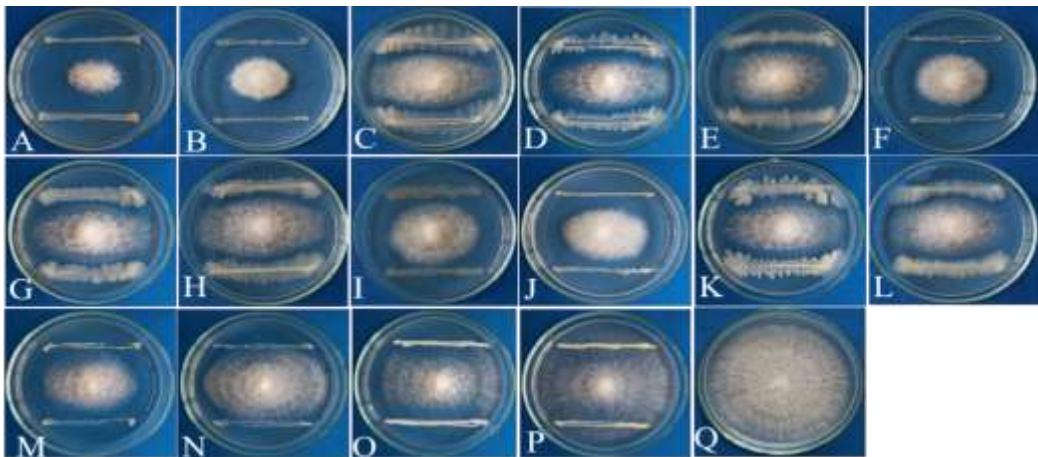
Vi khuẩn		Bán kính hệ sợi nấm (mm)					Hiệu suất
		1 NSC	2 NSC	3 NSC	4 NSC	5 NSC	đối kháng, %
Pseudomonas	CC-FN1.1	6,58 ^{cd}	10,28 ^h	12,05 ^j	13,13 ^j	13,93 ⁱ	65,17 ^a
Pseudomonas	ĐHT3	8,22 ^b	11,55 ^g	12,87 ^j	14,03 ^j	15,17 ^{hi}	62,08 ^{ab}
Bacillus	CC-LĐ2.4	8,47 ^{ab}	14,42 ^{bcd}	16,40 ^{fgh}	16,75 ^{hi}	17,08 ^{gh}	57,29 ^{bc}
Pseudomonas	O-CC4	6,08 ^d	13,87 ^{de}	15,85 ^{hi}	16,37 ⁱ	17,33 ^g	56,67 ^{bcd}
Bacillus	KT-ĐD1	8,10 ^b	14,47 ^{bcd}	16,65 ^{e-h}	17,23 ^{ghi}	18,12 ^{fg}	54,71 ^{cde}
Pseudomonas	CC-LĐ1.2	6,92 ^c	11,55 ^g	14,63 ⁱ	17,42 ^{ghi}	19,10 ^{efg}	52,25 ^{c-f}
Bacillus	O-BT3.1	6,47 ^{cd}	14,03 ^d	17,28 ^{d-g}	18,68 ^{e-h}	19,68 ^{ef}	50,79 ^{def}
Pseudomonas	SL-DL3	8,42 ^{ab}	15,20 ^{bc}	17,87 ^{de}	18,80 ^{efg}	19,85 ^{ef}	50,38 ^{def}
Pseudomonas	O-BT1.2	8,35 ^{ab}	12,45 ^{fg}	15,77 ^{hi}	18,05 ^{f-i}	20,15 ^{ef}	49,63 ^{ef}
Pseudomonas	ĐHT7	6,78 ^{cd}	11,65 ^g	14,97 ⁱ	18,32 ^{f-i}	20,25 ^{ef}	49,38 ^{ef}
Bacillus	O-ĐT3	6,60 ^{cd}	14,00 ^d	17,62 ^{def}	19,63 ^{ef}	20,87 ^e	47,83 ^f
Bacillus	ĐXT6	8,72 ^{ab}	15,42 ^b	19,65 ^c	20,33 ^e	21,15 ^e	47,13 ^f
Pseudomonas	O-BT3.2	6,32 ^{cd}	12,27 ^{fg}	15,97 ^{ghi}	19,93 ^{ef}	23,75 ^d	40,63 ^g
Pseudomonas	CC-ĐT3	6,22 ^{cd}	12,97 ^{ef}	18,08 ^d	22,53 ^d	26,00 ^c	35,00 ^g
Pseudomonas	CC-LĐ2.1	6,20 ^{cd}	13,80 ^{de}	21,20 ^b	25,57 ^c	32,82 ^b	17,96 ^h
Pseudomonas	ĐXT1	6,70 ^{cd}	14,28 ^{cd}	21,70 ^b	27,60 ^b	34,77 ^b	13,08 ⁱ
	Đối chứng	9,03 ^a	16,58 ^a	25,33 ^a	32,02 ^a	40,00 ^a	-

Trung bình trong cùng một cột có các chữ cái khác nhau biểu thị mức sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=0,01$. NSC: Ngày sau cấy. Các giá trị cột HSDK đã được biến đổi dưới dạng Arsin trước khi xử lý thống kê

Bảng 2. Kích thước vòng đối kháng của 6 vi khuẩn đối kháng đối với nấm *Foc* Tr4 chủng LA01

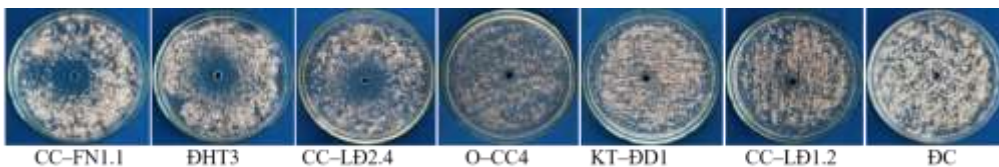
Vi khuẩn	Kích thước vòng đối kháng (mm)	Khả năng đối kháng
<i>Pseudomonas</i> sp. CC-FN1.1	10,68 ^a	Mạnh
<i>Pseudomonas</i> sp. ĐHT3	10,04 ^b	Mạnh
<i>Bacillus</i> sp. CC-LĐ2.4	6,53 ^c	Trung bình
<i>Pseudomonas</i> sp. O-CC4	0,00 ^d	Không đối kháng
<i>Bacillus</i> sp. KT-ĐD1	0,00 ^d	Không đối kháng
<i>Pseudomonas</i> sp. CC-LĐ1.2	0,00 ^d	Không đối kháng
Đối chứng	0,00 ^d	-

Trung bình trong cùng một cột có các chữ cái khác nhau biểu thị mức sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=0,01$.



Hình 3. Khả năng đối kháng của vi khuẩn với nấm *Foc* Tr4 chủng LA01 tại thời điểm 5 NSC: CC-FN1.1 (A), ĐHT3 (B), CC-LĐ2.4 (C), O-CC4 (D), KT-ĐD1 (E), CC-LĐ1.2 (F), O-BT3.1 (G), SL-DL3 (H), O-BT1.2 (I), ĐHT7 (J), O-ĐT3 (K), ĐXT6 (L), O-BT3.2 (M), CC-ĐT3 (N), CC-LĐ2.1 (O), ĐXT1 (P), Đối chứng (Q)

Theo phương pháp khuếch tán giếng thạch, tại thời điểm 48 giờ sau cấy hai vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 thể hiện khả năng đối kháng mạnh với kích thước vòng đối kháng trung bình với nấm *Foc* Tr4 chủng LA01 lần lượt là 10,68 mm và 10,04 mm (Hình 4, Bảng 2), còn vi khuẩn *Bacillus* sp. CC-LĐ2.4 có khả năng đối kháng trung bình với kích thước vòng đối kháng là 6,53 mm. Các vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-LĐ1.2 và O-CC4, *Bacillus* sp. KT-ĐD1, tuy có thể hiện khả năng đối kháng trung bình với nấm *Foc* Tr4 chủng LA01 ở phương pháp cấy kếp nhưng không thể hiện khả năng đối kháng trong phương pháp khuếch tán giếng thạch.



Hình 4. Khả năng đối kháng của 6 vi khuẩn với nấm *Foc* Tr4 chủng LA01 ở 48h sau cấy

Hình 4 cho thấy hai vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 có khả năng sinh ra các chất kháng nấm và khuếch tán trong môi trường thạch, ức chế

sự phát triển của nấm *Foc* Tr4 chủng LA01. Chính vì vậy, khả năng sinh enzyme chitinase, protease của hai chủng vi khuẩn này đã được xác định.

3.3. Khả năng sinh enzyme chitinase, protease của 2 chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3

Cả 2 vi khuẩn đều có khả năng sinh tổng hợp enzyme chitinase với ĐKVPG của vi khuẩn CC-FN1.1 là 14,68 mm (Bảng 3), có hoạt tính rất mạnh, và của vi khuẩn ĐHT3 là 10,59 mm (Bảng 3), có hoạt tính khá mạnh. Tương tự, hai vi khuẩn ĐHT3 và CC-FN1.1 cũng thể hiện khả năng sinh enzyme protease với ĐKVPG lần lượt là

11,83 mm và 9,5 mm (Bảng 3), thể hiện hoạt tính khá mạnh. Li và cs. (2022) cho rằng enzyme protease và chitinase được xem là các enzyme chịu trách nhiệm chính

trong thể hiện khả năng đối kháng nấm của vi khuẩn, theo đó vi khuẩn *P. aeruginosa* Gxun-2 đã ức chế đáng kể sự phát triển của *Foc* Tr4 với hiệu suất ức chế đôi khi đạt tới 75,25% nhờ khả năng sinh enzyme chitinase. Shen và cs. (2022) cũng đã chỉ ra rằng chủng vi khuẩn *B. siamensis* Gxun-6 có khả năng đối kháng cao với nấm *Foc* Tr4, cho hiệu suất đối kháng 68,8% trong điều kiện phòng thí nghiệm, cũng có khả năng sinh các enzyme chitinase và protease ở mức mạnh. Điều này cho thấy hoạt tính enzyme chitinase và protease của 2 chủng

vi khuẩn *Pseudomonas* spp. ĐHT3 và CC-FN1.1 nhằm phân giải chitin và protein, là các thành phần quan trọng trong cấu tạo thành tế bào nấm *Foc* Tr4 góp phần vào làm tăng khả năng đối kháng của các vi khuẩn này với nấm *Foc*. Các enzyme này có thể được sinh ra trong quá trình nuôi cấy các chủng vi khuẩn này, do vậy dịch nổi thu được sau quá trình nuôi cấy 2 chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng đến sự phát triển của hệ sợi và sự nảy mầm của bào tử nấm *Foc* Tr4 chủng LA01

Bảng 3. Đường kính vòng phân giải enzyme của 2 vi khuẩn sau 72 GSC

Vi khuẩn	Đường kính vòng phân giải enzyme (mm)	
	Chitinase	Protease
<i>Pseudomonas</i> sp. CCFN 1.1	14,68 ^a	9,50 ^b
<i>Pseudomonas</i> sp. ĐHT3	10,59 ^b	11,83 ^a
Đối chứng	0,00 ^c	0,00 ^c

Trung bình trong cùng một cột có các chữ cái khác nhau biểu thị mức sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=0,01$.

3.4. Ảnh hưởng của dịch nổi 2 chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 đến sự phát triển của sợi nấm và nảy mầm bào tử nấm *Foc* Tr4 chủng LA01

Hình 5 thể hiện sự thay đổi hình thái sợi nấm *Foc* TR4 chủng LA01 ở nghiệm thức có bổ sung dịch nổi của các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và

ĐHT3 so với đối chứng không bổ sung dịch nổi. Sợi nấm biến dạng, quăn và teo lại, ở một số vị trí hình thành các mấu lồi bị thắt nút hoặc trương phình lên (Hình 5) ở mẫu được xử lý dịch nổi hai chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3, trong khi sợi nấm phát triển bình thường ở mẫu đối chứng.



Hình 5. Hình thái sợi nấm chủng *Foc* Tr4 chủng LA01 ở độ phóng đại 40X tại thời điểm 72 GSC ở đối chứng và xử lý với dịch nổi 2 chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. ĐHT3 và CC-FN1.1.

Theo nghiên cứu của Yun và cs. (2021), chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. 5-10 có khả năng sinh ra các hợp chất làm thay đổi cấu trúc của sợi nấm *Foc* Tr4, làm cho sợi nấm biến dạng, nhẵn nhéo và vỡ ra, một phần lớn sợi nấm *Foc* Tr4 bị phân hủy. Wang và cs. (2022), cho rằng hợp chất C14-iturin A do vi khuẩn *B. amyloliquefaciens* NCPSJ7 tiết ra có thể làm thành tế bào và màng tế bào nấm *F. oxysporum* f. sp. *niveum* bị phá hủy, làm bề mặt sợi nấm trở nên gồ ghề và không đồng đều, sợi nấm méo mó, teo lại hoặc sưng to ở một số vị trí nhất định. Thời gian tiếp xúc với C14-iturin càng lâu hình thái sợi nấm thay đổi càng nghiêm trọng, sợi nấm trở nên mỏng hơn và biến dạng co ngót mạnh hơn. Điều này cho thấy rằng trong dịch nổi nuôi cấy hai chủng vi

khuẩn CC-FN1.1 và ĐHT3 cũng có khả năng sinh ra các hợp chất tương tự, các enzyme chitinase và protease, đã tác động làm biến đổi cấu trúc sợi nấm.

Dịch nổi sau nuôi cấy hai chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 cũng tác động rõ rệt đến sự nảy mầm bào tử nấm *Foc* Tr4 chủng LA01. Các bào tử nấm *Foc* Tr4 chủng LA01 đã nảy mầm tại thời điểm 12 GSC ở nghiệm thức đối chứng, trong khi đó chưa ghi nhận rõ ràng sự nảy mầm của bào tử khi xử lý dịch nổi các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 (Hình 6). Tại thời điểm 24 GSC Hiệu suất ức chế nảy mầm của hai chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 đạt lần lượt là 94,33% và 90% (Bảng 4).

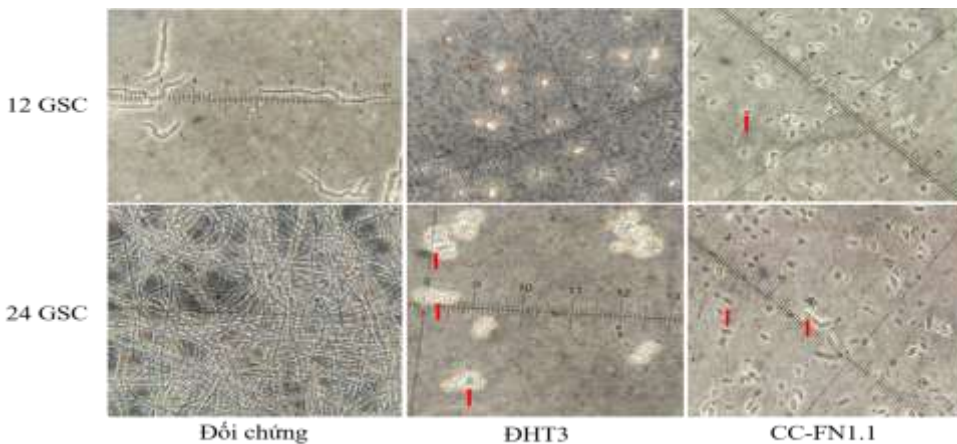
Bảng 4. Hiệu suất ức chế sự nảy mầm bào tử nấm *Foc* Tr4 chủng LA01 của vi khuẩn

Vi khuẩn	Hiệu lực ức chế (%)	
	12 GSC	24 GSC
<i>Pseudomonas</i> sp. CCFN 1.1	89,79 ^a	90,00 ^a
<i>Pseudomonas</i> sp. ĐHT3	94,22 ^a	94,33 ^a
Đối chứng	0,00 ^b	0,00 ^b

Trung bình trong cùng một cột có các chữ cái khác nhau biểu thị mức sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=0,01$.

Ở đối chứng bào tử bào tử nấm *Foc* Tr4 chủng LA01 nảy mầm với hình thái

thường, khi xử lý với dịch nổi hai chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. ĐHT3



Hình 6. Bào tử nấm *Foc* TR4 chủng LA01 ở độ phóng đại 40X tại thời điểm 12 GSC và 24 GSC ở đối chứng và xử lý dịch nổi vi khuẩn

và CC-FN1.1 bào tử xuất hiện sự thoái hóa trong hình thái, bào tử bị co lại, một số bị đen hoặc bào tử bị sưng to, ống mầm trương phình phát triển chậm (Hình 6). Kết quả này tương tự ghi nhận của Đinh Trường Sơn và cs. (2022) khi xử lý bào tử của nấm *Foc* Tr4 với dịch nuôi xạ khuẩn *Streptomyces diastatochromogenes* VNUA27, làm giảm tỷ lệ nảy mầm và biến dạng hình thái bào tử. Theo Yadav và cs. (2021), vi khuẩn *B. amyloliquefaciens* S185 có khả năng sinh ra iturin A5, là chất có khả năng đối kháng mạnh với nấm *Foc*, làm giảm tỷ lệ nảy mầm của *Foc* xuống còn 66% và 37% khi xử lý ở các mức nồng độ iturin A5 62,5 µg/mL và 125 µg/mL, trong đó các ống mầm *Foc* có hình thái bị biến dạng đáng kể như đầu ống mầm trương phình lên.

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này 3 chủng *Foc* Tr4 gây bệnh héo vào trên chuối tại Long An được phân lập có đặc trưng sợi nấm mọc nổi trên mặt thạch, ở tâm sợi nấm màu vàng nhạt, ra gần rìa có màu trắng với bào tử đỉnh nhỏ dạng hình trứng có giọt dầu, bào tử đỉnh lớn hình trắng khuyết hoặc hình hạt gạo dài có 3 - 4 vách ngăn với kích thước 2,7 - 7,5 µm × 2,6 - 11,1 µm. Các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. và *Bacillus* spp. được khảo sát đều có khả năng đối kháng với nấm *Foc* Tr4 chủng LA01, trong đó có hai chủng vi khuẩn có hiệu suất đối kháng cao với *Foc* Tr4 chủng LA01 là *Pseudomonas* sp. CC-FN1.1 (65,17%) và *Pseudomonas* sp. ĐHT3 (62,08%) ở 5 ngày sau cấy, đường kính vòng ức chế lần lượt là 10,68 mm và 10,04 mm. Hai chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. CC-FN1.1 và ĐHT3 có khả năng sinh enzyme chitinase và protease, dịch nổi nuôi cấy hai chủng vi khuẩn này có khả năng làm biến dạng hình thái sợi nấm, ức chế sự nảy mầm bào tử ở thời điểm 24 giờ sau cấy lần lượt là 94,33% và 90%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

- Đinh Trường Sơn, Nguyễn Thị Thanh Mai, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thanh Hải, Trần Thị Đào, Ngô Thị Vân Anh và Nguyễn Xuân Cảnh. (2022). Nghiên cứu đặc tính đối kháng với nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh trên chuối của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA27. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 20(8), 1042-1053.
- Lê Thị Loan, Nguyễn Tuấn Vũ, Vũ Đăng Toàn và Nguyễn Đức Huy. (2023). Đặc điểm sinh học và phòng chống sinh học nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* gây bệnh héo vàng chuối. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 21(6), 821-833.
- Nguyễn Thị Thanh Mai, Nguyễn Thị Thu, Bùi Xuân Tứ, Trần Văn Tuấn, Phạm Hồng Hiền, và Nguyễn Xuân Cảnh. (2024). Xác định điều kiện lên men thích hợp cho chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 nhằm tăng khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* gây bệnh héo rû trên cây chuối. *Tạp chí Khoa học Và Công nghệ Việt Nam*, *Bản B*, 66(6), 26-33.
- Trần Ngọc Hùng, Đỗ Thị Vĩnh Hằng và Nguyễn Đức Huy. (2020). Bệnh héo vàng (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) hại chuối tiêu tại Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 18(5), 315-322.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Azman, N. A., Sijam, K., Hata, E. M., Othman, R., & Saud, H. M. (2017). Screening of bacteria as antagonist against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, the causal agent of bacterial leaf blight of paddy and as plant growth promoter. *Journal of Experimental Agriculture International*, 16(4), 1.
- Beibei, W. A. N. G., Zongzhuan, S. H. E. N., Zhang, F., Waseem, R. A. Z. A., Jim, Y. U. A. N., Rong, H.U.A.N.G., Yunze, R. U. A. N., Rong L. I., & Qirong, S. H. E. N. (2016). *Bacillus amyloliquefaciens* strain W19 can promote growth and yield and suppress *Fusarium* wilt in banana under greenhouse and field conditions. *Pedosphere*, 26(5), 733-744.
- Cronin, M. J., Yohalem, D. S., Harris, R. F., & Andrews, J. H. (1996). Putative mechanism and dynamics of inhibition of the apple scab pathogen *Venturia inaequalis* by compost extracts. *Soil Biology and Biochemistry*, 28(9), 1241-1249.

- Fan, H., Li, S., Zeng, L., He, P., Xu, S., Bai, T., Huang, Y., Guo, Z., & Zheng, S. J. (2021). Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 using natively isolated *Bacillus* spp. YN0904 and YN1419. *Journal of Fungi*, 7(10), 795.
- Ferreira, J. H. S., Matthee, F. N., & Thomas, A. C. (1991). Biological control of *Eutypa lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. *Ecology and Epidemiology*, 81(3), 283 – 287.
- Gemeda, N., Woldeamanuel, Y., Asrat, D., & Debella, A. (2014). Effect of essential oils on *Aspergillus* spore germination, growth and mycotoxin production: a potential source of botanical food preservative. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4, S373-S381.
- Hung, T. N., Hung, N. Q., Mostert, D., Viljoen, A., Chao, C. P., & Molina, A. B. (2018). First report of *Fusarium* wilt on Cavendish bananas, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (VCG 01213/16), in Vietnam. *Plant Disease*, 102(2), 448-448.
- John, F. L., & Brett, A. S. (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual. *Blackwell Publishing* (pp 387).
- Li, S., Ma, J., Li, S., Chen, F., Song, C., Zhang, H., Jiang, M., & Shen, N. (2022). Comparative transcriptome analysis unravels the response mechanisms of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* to a biocontrol agent, *Pseudomonas aeruginosa* Gxun-2. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 15432.
- Moore N.Y., Pegg K.G., Allen R.N. & Irwin J.A.G. (1993). Vegetative compatibility and distribution of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in Australia. *Australian Journal of experimental agriculture*, 33, 797-802.
- Palleroni, N.J. (1984). Genus *Pseudomonas*, In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1, Krieg, N. K., & Holt, J. G. (eds). Baltimore, MD, USA: Williams & Wilkins, pp. 141 – 199.
- Ray, A. K., Roy, T., Mondal, S., & Ringo, E. (2010). Identification of gut-associated amylase, cellulase and protease-producing bacteria in three species of Indian major carps. *Aquaculture Research*, 41(10), 1462-1469.
- Sharma, A., Rajendran, S., Srivastava, A., Sharma, S., & Kundu, B. (2017). Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 123(3), 308-313.49.
- Shen N., Li S., Li S., Zhang H., Jiang, M. (2022). The siderophore-producing bacterium, *Bacillus siamensis* Gxun-6, has an antifungal activity against *Fusarium oxysporum* and promotes the growth of banana. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32(1), 1–9.
- Shi, J., Mueller, W. C., & Beckman, C. H. (1991). Ultrastructural responses of vessel contact cells in cotton plants resistant or susceptible to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 38(3), 211-222.
- Shivas, R., & Beasley, D. (2005). Management of plant pathogen collections. Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry. Retrieved 23/06/2025 from <<http://www.daff.gov.au/planthealth>>
- Soytong, K. (1988). Identification of species of *Chaetomium* in the Philippines and screening for their biocontrol properties against seed borne fungi of rice. Ph.D. Thesis. ULPB College, Philippines.
- Tamrela, H., Sugiyanto, A., Santoso, I., & Fadhilah, Q. G. (2021). The qualitative screening of cellulolytic, chitinolytic, IAA-producing, and phosphate solubilizing bacteria from black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.). In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 948 (1), (012065). IOP Publishing.
- Wang, J., Qiu, J., Yang, X., Yang, J., Zhao, S., Zhou, Q., & Chen, L. (2022). Identification of lipopeptide iturin: A produced by *Bacillus amyloliquefaciens* NCPSJ7 and its antifungal activities against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Foods*, 11(19), 2996.
- Yadav, K., Damodaran, T., Dutt, K., Singh, A., Muthukumar, M., Rajan, S., Gopal, R., & Sharma, P. C. (2021). Effective biocontrol of banana fusarium wilt tropical race 4 by a bacillus rhizobacteria strain with antagonistic secondary metabolites. *Rhizosphere*, 18, 100341.
- Yuan, J., Raza, W., Shen, Q., & Huang, Q. (2012). Antifungal activity of *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 volatile

- compounds against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Applied and environmental microbiology*, 78(16), 5942-5944.
- Yun, T., Zhang, M., Zhou, D., Jing, T., Zang, X., Qi, D., Chen, Y., Li, K., Zhao, Y., Tang, W., Huang, J., & Xie, J. (2021). Anti-Foc RT4 activity of a newly isolated *Streptomyces* sp. 5–10 from a medicinal plant (*Curculigo capitulata*). *Frontiers in Microbiology*, 11, 610698.
- Zhang, N., Xin, H. E., Zhang, J., Raza, W., Xing-Ming, Y. A. N. G., Yun-Ze, R. U. A. N., Qi-Rong, S., Huang, Q. W. (2014). Suppression of fusarium wilt of banana with application of bio-organic fertilizers. *Pedosphere*, 24(5), 613-624.
- Zheng, S. J., García-Bastidas, F. A., Li, X., Zeng, L., Bai, T., Xu, S., Yin, K., Li, H., Fu, G., Yu, Y., Yang, L., Nguyen, H. C., Douangboupha, B., Khaing, A. A., Drenth, A., Seidl, M. F., Meijer, H. J. G., & Kema, G. H. (2018). New geographical insights of the latest expansion of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 into the greater Mekong subregion. *Frontiers in Plant Science*, 9, 457.