

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA NẤM *Trichoderma* VỚI *Pythium* VÀ *Phytophthora* GÂY BỆNH NÚT THÂN XÌ MỦ VÀ THỐI RỄ TRÊN SẦU RIÊNG TRONG ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Trần Minh Tín¹, Trương Phúc Thịnh, Lâm Phước Thành^{1,2}, Lê Phước Thạnh^{1*}

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập các chủng nấm *Trichoderma* hiện diện trong đất vùng rễ sầu riêng tại thành phố Cần Thơ và hai tỉnh Vĩnh Long, Đồng Tháp, đồng thời đánh giá khả năng đối kháng của chúng đối với các tác nhân gây bệnh thuộc nhóm Oomycetes. Kết quả phân lập từ 41 mẫu đất vùng rễ cho thấy *Trichoderma* hiện diện trong tất cả các mẫu khảo sát (100%), với tổng số 100 chủng được thu nhận trên môi trường chọn lọc. Thử nghiệm đối kháng *in vitro* với chủng *Pythium deliense* PD1.2 đã tuyển chọn được 15 chủng *Trichoderma* có khả năng đối kháng mạnh sau 72 giờ nuôi cấy, chiếm 15% tổng số chủng phân lập. Các chủng này tiếp tục được đánh giá với một chủng *P. deliense* (PD34.1) và bốn chủng *Phytophthora* sp. (PD13.2, PD13.4, PD26.2 và PD35.6). Kết quả cho thấy tất cả 15 chủng đều duy trì hiệu suất đối kháng cao, đạt từ 49,4% đến 55,0% sau 72 giờ nuôi cấy. Quan sát tại vùng tiếp giáp giữa sợi nấm đối kháng và sợi nấm gây bệnh sau 148 giờ cho thấy hiện tượng ký sinh và tiêu diệt hoàn toàn sợi nấm *Pythium/Phytophthora*. Phân tích trình tự vùng ITS bằng cặp mồi ITS1/ITS4 xác định 9/15 chủng đại diện thuộc loài *Trichoderma asperellum*, với độ phù trình tự đạt 100% và mức độ tương đồng từ 99,64% đến 100% so với các trình tự tham chiếu trên GenBank. Kết quả nghiên cứu cho thấy *T. asperellum* là nguồn vi sinh vật bản địa có tiềm năng ứng dụng trong quản lý sinh học bệnh hại sầu riêng do *Pythium* và *Phytophthora* gây ra.

Từ khoá: Đối kháng, *Pythium deliense*, *Phytophthora* sp., *Trichoderma asperellum*, PCR-Giải trình tự

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2022), đến cuối năm 2023 diện tích trồng sầu riêng ở Việt Nam xấp xỉ đạt 151.000 ha, tăng gấp đôi so với năm 2022 chỉ hơn 71.000 ha. Tuy nhiên, việc trồng sầu riêng ở Việt Nam đã và đang bị ảnh hưởng bởi các tác nhân gây bệnh khác nhau như thối rễ do *Phytophthora* và *Pythium* (Luong *et al.*, 2010; Lê Đình Thảo và *cs.*, 2020), bệnh thối rễ, xì mủ do *Phytophthora* (Guest *et al.*, 2004), gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến năng suất và chất lượng sầu riêng.

Bên cạnh đó, việc lạm dụng quá nhiều thuốc bảo vệ thực vật để phòng trừ bệnh trên sầu riêng đã và đang gây ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe con người do dư lượng thuốc bảo vệ thực vật lưu tồn trong đất, nước và nông sản và sự kháng thuốc của các tác nhân gây bệnh (Huỳnh Phi Yến, 2019; Ratnadass & Sester, 2023). Do đó, việc sử dụng nấm *Trichoderma* như một tác nhân sinh học để quản lý bệnh trên sầu riêng được xem là một biện pháp an toàn và bền vững (Nguyễn Đăng Nghĩa và *cs.*, 2016). Các loài nấm *Trichoderma* có khả năng sản sinh ra các enzyme phân hủy vách tế bào, các hợp chất bay hơi ức chế sự phát triển, cạnh tranh dinh dưỡng với các mầm bệnh khác nhau và khả năng tiết siderophores giúp cây trồng hấp thu dinh dưỡng (Vittone, 2008; Manzar *et al.*, 2022; Nascimento *et al.*, 2022).

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập và

tuyển chọn các chủng nấm *Trichoderma* từ đất vùng rễ cây sầu riêng có tiềm năng đối kháng mạnh với các loài *Pythium* và *Phytophthora* gây bệnh trên sầu riêng trong điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả đạt được của đề tài là cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo trong việc quản lý bền vững bệnh hại do *Pythium* và *Phytophthora* trên sầu riêng trong tương lai.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn mầm bệnh *Pythium deliense* (PD1.2 và PD34.1) phân lập từ đất trồng cây bị bệnh, *Phytophthora* sp. (PD13.2, PD13.4, PD26.2, PD35.6) phân lập từ vỏ thân cây bị nứt thân xì mủ và được cung cấp từ phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học trong Bảo vệ thực vật (ATL 5.20), Đại học Cần Thơ. Nguồn nấm đối kháng *Trichoderma* được sử dụng từ nguồn phân lập được trong thí nghiệm này.

Môi trường PDA (Himedia, Ấn Độ), môi trường V8 (Campbell, Mỹ) + kháng sinh (Drenth & Sendall, 2001), hóa chất PCR (nước khử khoáng, My taq mix và cặp mồi ITS1 (5'-CCGTAGGTGAACCTGCGG-3') - ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập và xử lý mẫu đất

Dựa vào phương pháp điều tra sinh vật gây hại - Phần 4: Nhóm cây ăn quả (TCVN 13268-4:2021), chọn

¹ Đại học Cần Thơ; ² Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tỉnh Vĩnh Long

* Tác giả liên hệ, email: lpthanh@ctu.edu.vn

41 vườn sầu riêng (tại 3 tỉnh/thành phố gồm Đồng Tháp, Vĩnh Long và Cần Thơ) có diện tích tối thiểu 5.000 m² để tiến hành thu mẫu đất vùng rễ dùng để phân lập nấm *Trichoderma*. Mẫu đất vùng rễ cây sầu riêng được lấy ở 3 - 4 điểm theo tán cây, cách mặt đất từ 5 đến 10 cm và mỗi vườn thu mẫu đất ở 5 cây theo đường chéo góc. Sau đó, gom chung, trộn đều thành 01 mẫu (01 mẫu/vườn). Các mẫu đất được rây qua rây có đường kính lỗ rây 4 mm để loại bỏ đá, lá cây... Trữ các mẫu đất đã rây ở 4°C.

2.2.2. Phân lập nấm *Trichoderma*

Nấm *Trichoderma* được phân lập dựa vào phương pháp pha loãng đất với nước cất thanh trùng (Burgess *et al.*, 2009) và trải đều huyền phù đất trên môi trường chọn lọc TSM (*Trichoderma* Selective Medium) (Siddiquee, 2017). Các chủng nấm *Trichoderma* sau khi thuần được trữ trên môi trường mặt nghiêng PDA (ở 4°C).

2.2.3. Đánh giá khả năng đối kháng của các chủng *Trichoderma* đối với *Pythium* và *Phytophthora*

Thí nghiệm được thực hiện qua 2 đợt. Đợt 1 đánh giá khả năng đối kháng của các chủng *Trichoderma* phân lập được với chủng *Pythium deliense* PD1.2 (phân lập từ đất), là chủng có tốc độ sinh trưởng nhanh và khả năng gây bệnh mạnh. Đợt 2 đánh giá khả năng đối kháng của các chủng *Trichoderma* được tuyển chọn từ đợt 1 với 5 chủng gồm *Pythium deliense* PD34.1 và 4 chủng *Phytophthora* sp. (PD13.2, PD13.4, PD26.2 và PD35.6) giống nhau về mặt hình thái. Các chủng *P. deliense* (phân lập từ đất) và *Phytophthora* sp. (phân lập từ vết xì mủ thân sầu riêng) được sử dụng trong nghiên cứu đều có khả năng gây bệnh nhanh và mạnh trên lá sầu riêng.

Đánh giá khả năng đối kháng bằng kỹ thuật nuôi cấy kép (Yassin *et al.*, 2022). Các đĩa nấm *Trichoderma* và tác nhân gây bệnh đã được cấy truyền ra từ ống nguồn trước từ 3 đến 4 ngày. Nghiệm thức (T): đục các khoan nấm *Trichoderma* có đường kính 5 mm cấy vào đĩa PDA và đặt cách rìa đĩa PDA 1,5 cm. Tương tự, đục khoan môi trường từ đĩa tác nhân gây bệnh cấy vào phía đối diện với khoan nấm *Trichoderma*, cách rìa đĩa PDA 1,5 cm. Đối chứng (C): tiến hành cấy khoan PDA từ đĩa tác nhân gây hại, cách rìa đĩa PDA 1,5 cm. Thí nghiệm sẽ được tiến hành theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) với 4 lặp lại. Đặt trong tủ sáng tối (12 giờ sáng - 12 giờ tối) ở nhiệt độ 28 ± 2°C. Sau đó, khi khuẩn lạc nấm *Trichoderma* và khuẩn lạc tác nhân gây bệnh tiếp xúc với nhau, tiến hành đo và chụp ảnh sự phát triển của khuẩn lạc của tác nhân gây hại trên đĩa đối chứng và đĩa xử lý sau mỗi 24 giờ. Hiệu suất đối kháng được tính theo công thức của Tapwal và cộng sự (2011): $L\ (\%) = [(C - T)/C] \times 100$. Trong đó: L là phần trăm ức chế sự phát triển của sợi nấm xuyên tâm (hiệu suất đối kháng), C là bán kính sự phát triển

của mầm bệnh không có sự hiện diện của nấm *Trichoderma* (đối chứng), T là bán kính sự phát triển của mầm bệnh với sự hiện diện của *Trichoderma*.

2.2.4. Xác định khả năng gây chết của nấm *Trichoderma* đối với mầm bệnh *Pythium* và *Phytophthora*

Nhằm đánh giá khả năng gây chết mầm bệnh của các chủng nấm *Trichoderma* tại vùng đối kháng, các đĩa nuôi cấy kép thể hiện hiệu quả đối kháng rõ rệt được lựa chọn. Sau 7 ngày nuôi cấy, ba khoan thạch (đường kính 5 mm) được lấy từ vùng tiếp xúc giữa *Trichoderma* và mầm bệnh trên mỗi đĩa đối kháng và chuyển sang môi trường chọn lọc V8 bổ sung kháng sinh và môi trường PDA, ủ trong tối ở 28°C trong 3 ngày với 4 lần lặp lại. Các khoan nấm nuôi cấy thuần của mầm bệnh (đĩa đối chứng) được cấy lên môi trường V8-kháng sinh và khoan *Trichoderma* ở đĩa đối kháng sẽ được cấy lên môi trường PDA và được sử dụng làm đối chứng. Khả năng sống sót của nấm được đánh giá dựa trên sự phát triển của khuẩn lạc sau thời gian ủ; khuẩn lạc không phát triển trên môi trường thích hợp được xem là đã chết.

2.2.5. Nuôi cấy trên lame để quan sát quá trình nấm *Trichoderma* ký sinh lên mầm bệnh

Phương pháp kiểm tra sự tương tác giữa nấm đối kháng và mầm bệnh được hiệu chỉnh theo mô tả của Bhat (2017). Chuẩn bị đĩa Petri (đường kính 90 mm) chứa 10 mL môi trường PDA gần bằng độ dày miếng Lame. Sử dụng một tấm Lame để phía dưới đáy đĩa Petri và làm dấu bằng marker hình dạng tấm Lame. Dùng dao vô trùng cắt loại bỏ phần thạch theo kích thước của tấm Lame sao cho khi đặt tấm Lame vào không bị hở (vừa kín). Sau đó đặt một tấm lame vô trùng vào vị trí rỗng thạch vừa bị cắt bỏ, dùng dao vô trùng chỉnh sao cho bề mặt tấm lame phẳng với bề mặt môi trường. Tiến hành cấy tác nhân gây bệnh và nấm *Trichoderma* ở 3 vị trí ở phần thạch hai bên tấm Lame (cấy đối diện nhau), ủ trong điều kiện tối ở 28°C trong 48 - 96 giờ. Đến khi quan sát thấy cả hai tương tác rõ ràng với nhau, tiến hành dùng kẹp vô trùng lấy tấm Lame ra khỏi đĩa Petri. Sau đó, nhuộm với cotton blue (10 - 25%) để quan sát sự tương tác dưới kính hiển vi.

2.2.6. Định danh đến loài các chủng nấm *Trichoderma* có tiềm năng đối kháng mạnh bằng kỹ thuật PCR-Giải trình tự

Các chủng nấm *Trichoderma* (9 chủng) được nuôi cấy trong môi trường PDB ở 28 ± 2°C từ 3 đến 5 ngày để thu sợi nấm. Sợi nấm được nghiền trong nitor lỏng thành bột mịn, sau đó bột mịn này được ly trích DNA bằng bộ kit TopPURE Plant DNA Extraction (HI-122) của Công ty TNHH Thiết bị ABT (Việt Nam). DNA được PCR với cặp mồi ITS1/ITS4 (Siddiquee, 2017). Sản phẩm PCR có kích thước mong đợi được gửi giải trình tự theo quy trình của

công ty 1st BASE (Singapore). Kết quả trình tự sẽ được xử lý bằng phần mềm FinchTV để kiểm tra tín hiệu của các nucleotide hiện rõ và tín hiệu nhiễu. Sau đó, các đoạn trình tự sản phẩm PCR sẽ được so sánh với dữ liệu trình tự trên cơ sở dữ liệu NCBI bằng công cụ BLASTN nhằm xác định mức độ tương đồng và độ phủ đến cấp độ loài. Các trình tự ở mỗi nhóm loài sẽ được sử dụng để xây dựng cây phả hệ (phần mềm MEGA phiên bản 12.0.9 (Kumar *et al.*, 2024). Cây được xây dựng theo phương pháp Maximum Likelihood (ML), với độ tin cậy của các nhánh được đánh giá bằng phân tích bootstrap 1.000 lần lặp. Kết quả được sử dụng để xác định mức độ tương đồng và mối quan hệ phát sinh chủng loại giữa các chủng phân lập với các loài đã được công bố trên cơ sở dữ liệu NCBI.

Số liệu sẽ được phân tích và thống kê bằng phần mềm Minitab. Phép phân tích thống kê (ANOVA), phép so sánh trung bình Duncan, mức ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 02 năm 2024 đến tháng 12 năm 2025 tại Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học trong Bảo vệ thực vật (ATL 5.20), Tòa nhà Công nghệ cao, khu 2, Đại học Cần Thơ. Địa điểm thu mẫu tại thành phố Cần Thơ và 2 tỉnh Vĩnh Long và Đồng Tháp.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả nghiên cứu

3.1.1. Kết quả phân lập nấm *Trichoderma*

Tổng cộng đã phân lập được 100 chủng nấm *Trichoderma* từ 41 mẫu đất (1 mẫu/vườn) (Bảng 1). Có 40 chủng được phân lập ở TP. Cần Thơ, 40 chủng được phân lập ở Vĩnh Long và 20 chủng được phân lập tại Đồng Tháp. Các chủng phân lập này được sử dụng để đánh giá khả năng đối kháng với *Pythium* và *Phytophthora*. Tỷ lệ các chủng đối kháng trên tổng các chủng nấm phân lập được ghi nhận khác nhau giữa các địa phương: 17,5% ở thành phố Cần Thơ, 10% ở Đồng Tháp và 15,0% ở Vĩnh Long.

Bảng 1. Kết quả phân lập nấm *Trichoderma* từ đất vùng rễ cây sầu riêng

Tỉnh/Thành phố	Số mẫu đất	Số chủng phân lập được	Số chủng đối kháng	Tỷ lệ (%)	Kí hiệu các chủng phân lập
Cần Thơ	16	40	7	17,5	TD6.2, TD8.2, TD10.2, TD12.3, TD14.1, TD 25.4, TD26.4
Đồng Tháp	11	20	2	10,0	TD4.3, TD21.1
Vĩnh Long	14	40	6	15,0	TD1.1, TD1.2, TD1.3, TD23.1, TD29.7, TD30.4
Tổng cộng	41	100	15		

3.1.2. Khả năng đối kháng của các chủng nấm *Trichoderma* với *Pythium* và *Phytophthora* trong điều kiện phòng thí nghiệm

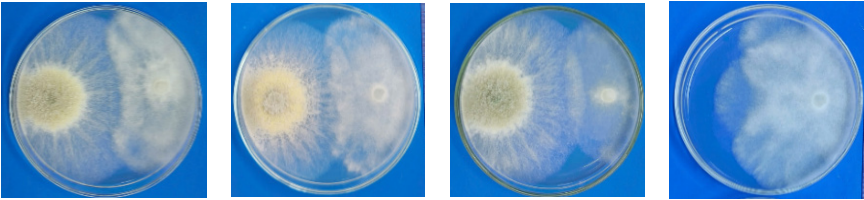
a) Khả năng đối kháng của 100 chủng nấm *Trichoderma* phân lập được với chủng *Pythium deliense* PD1.2

Kết quả kiểm tra khả năng đối kháng của 100 chủng *Trichoderma* đối với chủng *Pythium deliense* PD1.2 (phát triển nhanh, gây bệnh trên lá sầu riêng nặng) cho thấy có 15 chủng *Trichoderma* (chiếm 15% trong tổng số chủng phân lập) (TD1.1, TD1.2, TD1.3, TD4.3, TD6.2, TD8.2, TD10.2, TD12.3, TD14.1, TD21.1, TD23.1, TD25.4, TD26.4, TD29.7, TD30.4) có hiệu suất đối kháng từ 48,7 đến 56,5%, cao hơn so với các chủng còn lại (số liệu không trình bày đầy đủ) (Bảng 2, Hình 1). Các chủng này (15) được sử dụng để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 2. Hiệu suất đối kháng của 15 chủng *Trichoderma* đối với chủng *Pythium deliense* PD1.2 sau 72 giờ nuôi cấy

Chủng	Hiệu suất đối kháng (%)
TD1.1	55,0 ^{abc}
TD1.2	48,7 ^{a-l}
TD1.3	51,0 ^{a-h}
TD4.3	50,8 ^{a-i}
TD6.2	49,5 ^{a-k}
TD8.2	50,1 ^{a-j}
TD10.2	51,7 ^{a-g}
TD12.3	49,7 ^{a-j}
TD14.1	49,7 ^{a-j}
TD25.4	54,8 ^{a-d}
TD21.1	54,0 ^{a-e}
TD23.1	56,5 ^a
TD26.4	55,8 ^{ab}
TD29.7	53,3 ^{a-f}
TD30.4	49,4 ^{a-k}
CV (%)	11,7
Mức ý nghĩa	**

Ghi chú: Các số trong cùng một cột theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt. **: khác biệt mức ý nghĩa 1%.



Hình 1. Ảnh đại diện khả năng đối kháng của các chủng *Trichoderma* TD1.1, TD1.2 và TD1.3 (từ trái qua phải) với chủng *Pythium deliense* PD1.2 trên đĩa PDA sau 72 giờ nuôi cấy (khuẩn lạc *Trichoderma* bên phải, *Pythium* bên trái)

b) Khả năng đối kháng của 15 chủng nấm *Trichoderma* với 5 chủng *Pythium deliense* và *Phytophthora* sp.

Khả năng đối kháng của 15 chủng nấm *Trichoderma* đối với 5 chủng *Pythium deliense* PD34.1 và *Phytophthora* sp. (PD13.2, PD13.4, PD26.2, PD35.6) đạt 40,3-55,0% (Bảng 2). Hiệu suất đối kháng của chủng TD1.1 đối với chủng PD26.2 (TD1.1-PD26.2) được ghi nhận là 40,3%, thấp hơn hiệu suất đối kháng của TD1.1-PD34.1 (52,8%), TD1.2-PD26.2 (53,4%), TD1.2-PD34.1 (52,5%), TD1.3-PD13.2 (52,9%), TD8.2-PD34.1 (52,5%), TD10.2-PD13.4 (53,8%), TD10.2-PD34.1 (54,6%), TD12.3-PD13.2 (55,0%), TD12.3-PD26.2

(54,4%), TD12.3-PD34.1 (52,5%), TD14.1-PD13.2 (52,2%), TD21.1-PD34.1 (52,7%), TD23.1-PD26.2 (52,6%), TD23.1-PD34.1 (52,9%), TD23.1-PD35.6 (52,0%), TD25.4-PD34.1 (53,9%), TD29.7-PD34.1 (52,9%) và TD30.4- PD34.1 (52,4%) (Bảng 2). Hiệu suất đối kháng trung bình của chủng *Trichoderma* TD23.1 đạt 52,4%, cao hơn chủng TD1.1 (47,0%) nhưng không khác biệt so với các chủng *Trichoderma* còn lại. Hiệu suất đối kháng của các chủng *Trichoderma* được ghi nhận cao nhất ở chủng *Pythium deliense* PD34.1, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng *Pythium* hay *Phytophthora* còn lại (Bảng 3).

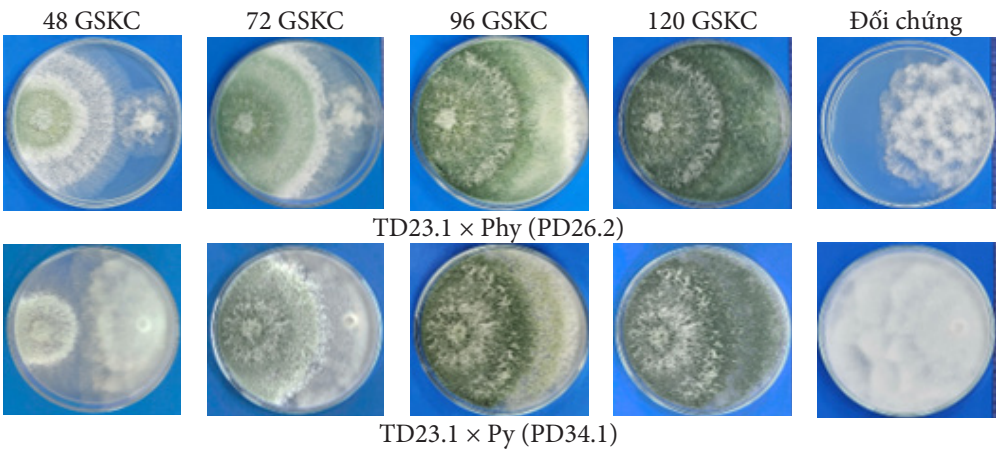
Bảng 3. Hiệu suất đối kháng của 15 chủng nấm *Trichoderma* với 1 chủng *Pythium deliense* PD34.1 và 4 chủng *Phytophthora* sp. (PD13.2, PD13.4, PD26.2, PD35.6) sau 72 giờ cấy đối kháng

Chủng phân lập <i>Trichoderma</i> (T)	Chủng phân lập <i>Pythium</i> (%) (Py)	Chủng phân lập <i>Phytophthora</i> (%) (Phy)				Trung bình (T)
	PD34.1	PD13.2	PD13.4	PD26.2	PD35.6	
TD1.1	52,8 ^a	48,2 ^{ab}	46,7 ^{ab}	40,3 ^b	46,8 ^{ab}	47,0 ^b
TD1.2	52,5 ^a	50,1 ^{ab}	47,8 ^{ab}	53,4 ^a	45,5 ^{ab}	49,9 ^{ab}
TD1.3	52,8 ^a	52,9 ^a	47,7 ^{ab}	47,9 ^{ab}	46,6 ^{ab}	49,6 ^{ab}
TD4.3	51,6 ^{ab}	45,6 ^{ab}	45,6 ^{ab}	48,3 ^{ab}	51,0 ^{ab}	48,4 ^{ab}
TD6.2	49,7 ^{ab}	50,7 ^{ab}	46,8 ^{ab}	50,0 ^{ab}	45,4 ^{ab}	48,5 ^{ab}
TD8.2	52,5 ^a	50,3 ^{ab}	45,0 ^{ab}	49,6 ^{ab}	44,5 ^{ab}	48,4 ^{ab}
TD10.2	54,6 ^a	49,0 ^{ab}	53,8 ^a	45,6 ^{ab}	49,4 ^{ab}	50,4 ^{ab}
TD12.3	52,5 ^a	55,0 ^a	50,4 ^{ab}	54,4 ^a	50,1 ^{ab}	52,5 ^a
TD14.1	54,2 ^a	52,2 ^a	49,9 ^{ab}	51,5 ^{ab}	45,2 ^{ab}	50,6 ^{ab}
TD21.1	52,7 ^a	45,7 ^{ab}	54,2 ^a	51,9 ^{ab}	43,6 ^{ab}	49,6 ^{ab}
TD23.1	52,9 ^a	50,8 ^{ab}	53,8 ^a	52,6 ^a	52,0 ^a	52,4 ^a
TD25.4	53,9 ^a	45,8 ^{ab}	47,6 ^{ab}	45,7 ^{ab}	50,1 ^{ab}	48,6 ^{ab}
TD26.4	51,6 ^{ab}	50,4 ^{ab}	54,6 ^a	50,2 ^{ab}	49,0 ^{ab}	51,1 ^{ab}
TD29.7	52,9 ^a	50,0 ^{ab}	49,1 ^{ab}	49,7 ^{ab}	43,7 ^{ab}	49,1 ^{ab}
TD30.4	52,4 ^a	48,8 ^{ab}	52,3 ^a	46,8 ^{ab}	50,0 ^{ab}	50,1 ^{ab}
Trung bình (Phy)		49,7 ^a	49,7 ^a	49,2 ^{ab}	47,5 ^b	
P (A)		**				
P (B)		**				
P (A × B)		**				
CV (%)	7,82	7,82				

Ghi chú: Các số trong cùng một cột, các số có chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê; ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.

Tóm lại, cả 15 chủng *Trichoderma* đều có khả năng đối kháng với 1 chủng *Pythium deliense* và 4 chủng *Phytophthora* sp. sau 72 giờ, với hiệu suất dao động từ 47,0 đến 52,5%. Điều này cho thấy cả 15 chủng

Trichoderma trong thí nghiệm này đều có tiềm năng ứng dụng trong kiểm soát sinh học đối với mầm bệnh *Pythium deliense* và *Phytophthora* sp.



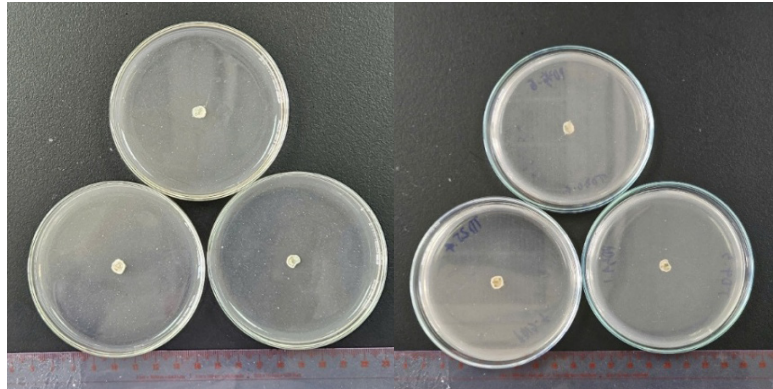
Hình 2. Ảnh đại diện khả năng đối kháng của chủng TD23.1 với các chủng *Phytophthora*/*Pythium* trên PDA sau mỗi 24 giờ (Khuẩn lạc *Trichoderma* bên phải, *Phytophthora*/*Pythium* bên trái)

Ghi chú: GSKC: Giờ sau khi cấy.

3.1.3. Khả năng gây chết của nấm *Trichoderma* đối với *Pythium* và *Phytophthora*

Các chủng *Pythium* và *Phytophthora* đã thử đối kháng với nấm *Trichoderma* trong thí nghiệm đối kháng được tái phân lập trên môi trường chọn lọc (V8-kháng sinh) dành riêng cho *Pythium* và *Phytophthora*. Sau 3 ngày quan sát, không có khuẩn lạc nào của đĩa mầm

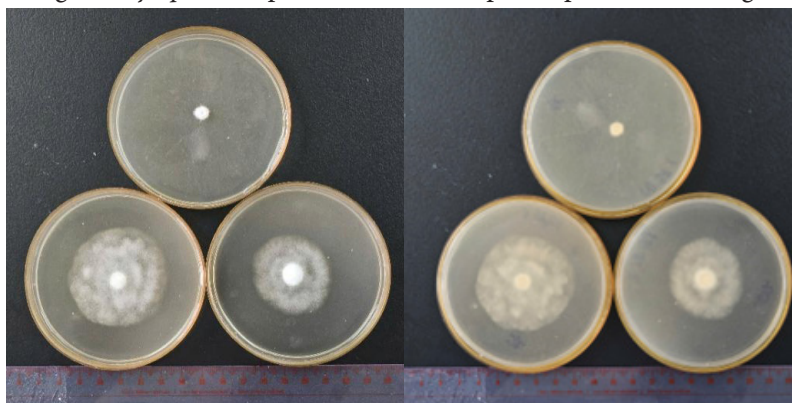
bệnh tiếp tục phát triển (Hình 3). Trong khi đó, khuẩn lạc của mầm bệnh được tách từ đĩa không có sự xuất hiện của nấm *Trichoderma* (đĩa đối chứng) có thể phát triển với khuẩn lạc màu trắng (Hình 5) và nấm *Trichoderma* được tách từ đĩa đối kháng sang môi trường PDA các khuẩn lạc đều phát triển và lan rộng trên đĩa (Hình 4).



Hình 3. Ảnh đại diện (a) mặt trên và (b) mặt dưới các đĩa tái phân lập trên môi trường chọn lọc (V8-kháng sinh) của *Phytophthora* sp. (PD26.2) ở vùng đối kháng sau 72 giờ



Hình 4. Ảnh đại diện (a) mặt trên và (b) mặt dưới của các nấm *Trichoderma* (TD23.1) ở vùng đối kháng với *Phytophthora* sp. (PD26.2) được tái phân lập trên môi trường PDA sau 72 giờ



Hình 5. Ảnh đại diện (a) mặt trên và (b) mặt dưới các đĩa tái phân lập *Phytophthora* sp. (PD26.2) trên môi trường V8-kháng sinh được tách từ đĩa không có sự xuất hiện của *Trichoderma* sau 72 giờ

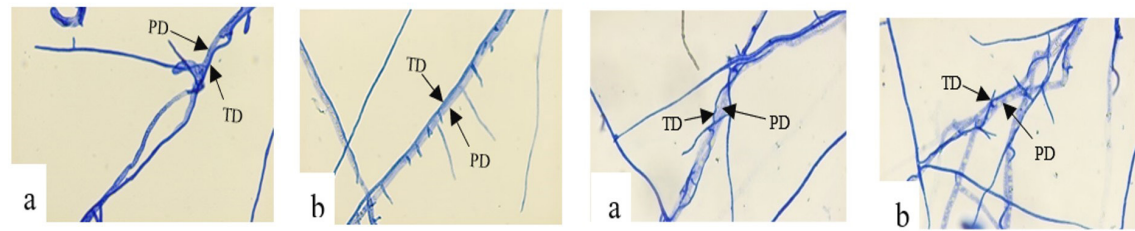
3.1.4. Khả năng ký sinh của nấm *Trichoderma* với mầm bệnh *Pythium* và *Phytophthora*

Chủng PD34.1 được chọn để thực hiện đánh giá khả năng đối kháng của nấm *Trichoderma*, kết quả cho thấy

cả 15 chủng đều có khả năng đối kháng từ mạnh đến yếu, tiếp tục chọn chủng PD34.1 để khẳng định qua thí nghiệm đánh giá khả năng đối kháng bằng kỹ thuật nuôi cấy kép. Sau khi thực hiện nuôi cấy mặt phẳng, kết quả

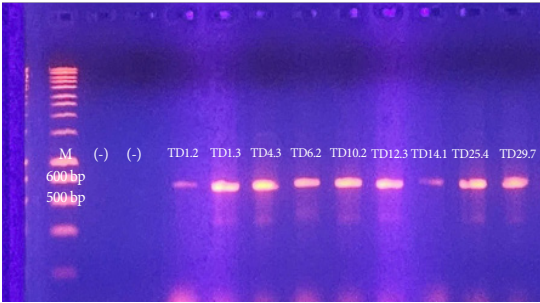
cho thấy cả 15 chủng nấm *Trichoderma* được chọn đều thể hiện khả năng đối kháng với chủng PD34.1. Khi quan sát dưới kính hiển vi, sợi nấm *Trichoderma* biểu hiện khả năng đối kháng thông qua cơ chế ký sinh (Hình 6): sợi nấm ký chủ (màu xanh nhạt hay không màu) bị sợi

nấm *Trichoderma* (màu xanh đậm) cuộn xung quanh hay bám chặt dọc theo sợi nấm ký chủ và hình thành các mẫu giống các chiếc gai đâm xuyên thủng thành tế bào xâm nhập vào bên trong ký chủ, ảnh chụp ở vật kính E10



Hình 6. (a) Sợi nấm *Trichoderma* cuộn xung quanh hay bám chặt dọc theo sợi nấm ký chủ *Phytophthora* sp. (PD34.1) ; (b) Sợi nấm *Trichoderma* (TD23.1) bám dọc và hình thành các mẫu giống các chiếc gai đâm xuyên thủng thành tế bào xâm nhập vào bên trong ký chủ, ảnh chụp ở vật kính E10

3.1.5. Định danh đến loài *Trichoderma* bằng kỹ thuật PCR-Giải trình tự



Hình 7. Kết quả điện di trên gel agarose 1,5% của 9 chủng *Trichoderma*
Ghi chú: M: DNA GeneRuler 1 kb Ladder plus, (-): Đối chứng âm.

Tiến hành chọn đại diện để PCR-giải trình tự sau khi phân loại hình thái, có 9 chủng *Trichoderma* được

chọn là TD1.2, TD1.3, TD4.3, TD6.2, TD10.2, TD12.3, TD14.1, TD25.4 và TD29.7. Kết quả điện di các sản phẩm PCR được khuếch đại từ DNA của 9 chủng *Trichoderma* đều xuất hiện băng sáng với kích cỡ khoảng 500 - 600 bp (Hình 7). Phù hợp với mô tả của Siddiquee (2017); Liu và cộng sự (2022), sản phẩm PCR từ DNA của *Trichoderma* cho sản phẩm có kích thước khoảng 600 bp với cặp mỗi ITS1/ITS4.

Kết quả giải trình tự sản phẩm PCR của cặp mỗi ITS1/ITS4 và so sánh trình tự trên NCBI cho thấy cả 9 chủng TD1.2, TD1.3, TD4.3, TD6.2, TD10.2, TD12.3, TD14.1, TD25.4, TD29.7 được xác định là loài *Trichoderma asperellum* với độ phủ 100% và độ tương đồng 99,64 - 100% so với dữ liệu trên NCBI. Kết quả xây dựng cây phả hệ cho thấy 9 chủng *Trichoderma* phân lập phân nhánh cùng với các loài tham khảo *T. asperellum* trên NCBI và tách biệt hoàn toàn với các loài tham khảo khác (Hình 8).



Hình 8. Cây phả hệ chỉ mối quan hệ của 9 chủng phân lập TD1.2, TD1.3, TD4.3, TD6.2, TD10.2, TD12.3, TD14.1, TD25.4, TD29.7 với các chủng (loài) tham khảo trên NCBI

3.2. Thảo luận

Tỷ lệ các chủng *Trichoderma* có khả năng đối kháng cao trên tổng số chủng phân lập được ghi nhận có sự khác biệt giữa các địa phương khảo sát, với tỷ lệ cao nhất tại thành phố Cần Thơ (17,5%), tiếp theo là Vĩnh Long (15,0%) và thấp nhất tại Đồng Tháp (10,0%). Sự khác biệt này có thể liên quan đến điều kiện sinh thái đất, biện pháp canh tác và đặc điểm quần thể vi sinh vật vùng rễ tại từng địa phương. Thành phố Cần Thơ và Vĩnh Long là những khu vực có nhiều vườn sầu riêng được canh tác thâm canh, thường xuyên bổ sung phân hữu cơ và các chế phẩm sinh học, qua đó tạo môi trường thuận lợi cho sự phát triển và duy trì quần thể *Trichoderma* trong đất. Bên cạnh đó, áp lực từ các tác nhân gây bệnh có nguồn gốc đất như *Pythium* và *Phytophthora* có thể góp phần thúc đẩy quá trình chọn lọc tự nhiên, làm gia tăng tỷ lệ các chủng *Trichoderma* có khả năng cạnh tranh và đối kháng mạnh. Ngược lại, tỷ lệ thấp hơn tại Đồng Tháp có thể xuất phát từ sự khác biệt về thành phần cơ giới đất, chế độ thủy văn, độ pH hoặc lịch sử sử dụng thuốc bảo vệ thực vật, những yếu tố đã được ghi nhận có ảnh hưởng đáng kể đến cấu trúc và tính đa dạng của quần thể vi sinh vật đất. Kết quả này cho thấy nguồn gốc địa lý và điều kiện canh tác có thể là những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến tiềm năng đối kháng của các chủng *Trichoderma*, đồng thời gợi ý rằng việc tuyển chọn chủng đối kháng nên được thực hiện trên phạm vi nhiều vùng sinh thái khác nhau nhằm gia tăng khả năng tìm kiếm các chủng có hoạt tính sinh học cao.

Nấm *Trichoderma* spp. có nhiều trong đất tự nhiên, trong đó loài *Trichoderma asperellum* có khả năng đối kháng nhiều tác nhân gây bệnh hại cây sầu riêng có nguồn gốc trong đất, điển hình như *Pythium* và *Phytophthora*. Trong nghiên cứu này, hiệu suất đối kháng của các chủng nấm *Trichoderma* với các mầm bệnh *Pythium* và *Phytophthora* được xem là chỉ số sàng lọc chính, nhằm chọn ra những chủng có khả năng đối kháng phổ rộng và loại bỏ những chủng có hiệu suất đối kháng tương đối thấp với nhiều loại mầm bệnh *Pythium* và *Phytophthora* trong điều kiện phòng thí nghiệm. Cụ thể, trong số 100 chủng phân lập được kiểm tra với một chủng mầm bệnh PD1.2 đã chọn được 15 chủng *Trichoderma* có khả năng đối kháng cao. Dựa vào kết quả PCR-giải trình tự, 15 chủng nấm *Trichoderma* được định danh thuộc loài *T. asperellum*. Kết quả này tương tự với các nghiên cứu của Dương Minh và cộng sự (2006) và Sutthisa và cộng sự (2024) trên sầu riêng.

Mười lăm chủng *Trichoderma* này (*T. asperellum*) được chọn tiếp tục có khả năng đối kháng cao với 5 chủng mầm bệnh (PD13.2; PD13.4; PD26.2; PD34.1 và PD35.6). Điều này phù hợp với các kết quả nghiên cứu trước đó cho

thấy khi tiếp xúc, loài *T. asperellum* phát triển nhanh về phía mầm bệnh, tấn công, cuộn quanh và ức chế sự phát triển của mầm bệnh (Lê Thanh Bình và cs., 2022). Trong nghiên cứu trước đây, loài *T. asperellum* được ghi nhận có khả năng ức chế tốt với các tác nhân gây bệnh thối rễ trên nhiều loại cây với nhiều tác nhân gây hại khác nhau như *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Pythium* sp., *Phytophthora nicotianae* (Nguyễn Đức Huy và cs., 2017).

Theo kết quả nghiên cứu của Liu và cộng sự (2022), loài *T. asperellum* phân lập trên nhiều loại cây (táo, lê, dưa leo, thuốc lá) không chỉ thể hiện khả năng đối kháng tốt, đạt trên 40% sau 96 giờ cấy, mà còn có tác dụng gây chết với 5 loài *Phytophthora nicotianae*, *P. capsici*, *Pythium vexans*, *Pythium ultimum* và *Py. dissotocum* trong điều kiện phòng thí nghiệm. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, loài *T. asperellum* được phân lập từ đất vùng rễ cây sầu riêng có hiệu suất đối kháng với các chủng *Pythium* và *Phytophthora* cao hơn so với nghiên cứu của Liu và cộng sự (2022), với khả năng đối kháng từ 47 đến 52% sau 72 giờ nuôi cấy. Tương tự với kết quả nghiên cứu trước đó của Dương Minh và cộng sự (2006) cho thấy các chủng nấm *Trichoderma* có khả năng đối kháng tốt đạt từ 50 đến 57% sau 3 ngày trên PDA với loài *Phytophthora palmivora* được cho là tác nhân gây bệnh chảy nhựa gốc và cành sầu riêng. Theo Phạm Thị Lý Thu và cộng sự (2022), nấm *Trichoderma* phân lập từ đất vùng rễ cây có múi có khả năng ức chế tốt với *Phytophthora citrophthora* gây thối rễ đạt từ 70 đến 80% sau 7 ngày. Đồng thời, trong quá trình phát triển, *Trichoderma* tiết ra các enzyme ngoại bào như β -1,3-glucanase, chitinase, cellulase có tác dụng phá hủy màng tế bào của *Pythium* và *Phytophthora* (Gao et al., 2018; Mukhopadhyay & Kumar, 2020).

Nghiên cứu này còn đánh giá thêm nấm *Trichoderma* có khả năng ký sinh và gây chết đối với mầm bệnh *Pythium* và *Phytophthora* sau khi tương tác trực tiếp trong điều kiện *in vitro*. Cụ thể, phương pháp nuôi cấy trên bề mặt thạch được áp dụng và đã quan sát thấy cả 15 chủng được chọn đều thể hiện khả năng ký sinh như bám dọc, quấn chặt các chủng *Pythium* và *Phytophthora* tương tự như mô tả của Ahmed và cộng sự (1999); Brotman và cộng sự (2010). Đặc biệt, nghiên cứu này còn quan sát thấy sự hình thành các cấu trúc như gai đâm xuyên qua màng sợi nấm ở cả 15 chủng đối với các chủng *Pythium* và *Phytophthora*, tương tự với mô tả về cấu trúc này của Bhat (2017) khi các loài như nấm *T. asperellum*, *T. harzianum*... tương tác với nấm *Rhizoctonia solani* và *Fusarium oxysporum*, và theo mô tả của Panchalingam và cộng sự (2022), *Trichoderma* tương tác với nấm *Pyrrhoderma nexium* gây thối rễ cây sung. Ngoài ra, Jiang và cộng sự (2016) đã báo cáo loài *T. asperellum* ở giai đoạn sợi nấm có khả năng xâm

niêm và làm biến dạng hoặc phân hủy hoàn toàn bào tử, góp phần làm giảm tỷ lệ nảy mầm của bào tử của loài *Phytophthora capsici*. Bên cạnh đó, các đĩa đã được thực hiện thử nghiệm đối kháng sau 7 ngày được sử dụng môi trường đặc hiệu cho mầm bệnh *Pythium* và *Phytophthora* (V8-kháng sinh), sau 3 ngày quan sát liên tục có thể quan sát thấy nấm *Trichoderma* hoàn toàn ngăn chặn sự phát triển của mầm bệnh. Bước đầu khẳng định sau 7 ngày mầm bệnh đã bị chết hoàn toàn sau khi tương tác trực tiếp với nấm *Trichoderma* tương tự với báo cáo của Liu và cộng sự (2022). Kết quả cho thấy nấm *Trichoderma* không chỉ đối kháng, ức chế sự phát triển của mầm bệnh mà còn có khả năng gây chết mầm bệnh qua cơ chế khác (như tiết enzyme phân hủy vách tế bào mầm bệnh).

Tóm lại, kết quả nghiên cứu cho thấy 15/100 chủng *Trichoderma* phân lập (thuộc loài *T. asperellum*) có tiềm năng đối kháng với các chủng nấm *Pythium* (2 chủng) và *Phytophthora* sp. (4 chủng) trong điều kiện phòng thí nghiệm. Đồng thời, các kết quả cho thấy tiềm năng ứng dụng của các chủng *Trichoderma* này trong việc quản lý các bệnh hại trên sầu riêng do *Pythium* và *Phytophthora* gây ra.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập được 100 chủng nấm *Trichoderma* từ 41 mẫu đất vùng rễ sầu riêng thu thập tại khu vực Đồng bằng sông Cửu Long. Kết quả đánh giá khả năng đối kháng trong điều kiện phòng thí nghiệm cho thấy có 15 chủng *Trichoderma* thể hiện tiềm năng đối kháng cao đối với 1 chủng *Pythium deliense* và 5 chủng *Phytophthora* sp., với hiệu suất đối kháng đạt từ 49,4% đến 55,0%. Điều này cho thấy các chủng *Trichoderma* bản địa hiện diện trong đất vùng rễ sầu riêng có tiềm năng ứng dụng trong kiểm soát sinh học các tác nhân Oomycetes gây bệnh quan trọng trên cây sầu riêng.

Kết quả định danh bằng kỹ thuật PCR kết hợp giải trình tự vùng gen rDNA cho thấy 9 trong số 15 chủng *Trichoderma* đại diện được xác định thuộc loài *Trichoderma asperellum*, với độ phủ trình tự đạt 100% và mức độ tương đồng từ 99,64% đến 100% so với các trình tự tham chiếu trên GenBank. Sự hiện diện phổ biến của *T. asperellum* trong nhóm các chủng có hoạt tính đối kháng cao cho thấy loài này có thể đóng vai trò quan trọng trong việc ức chế sự phát triển của các tác nhân gây bệnh trên cây sầu riêng có nguồn gốc từ đất.

Kết quả nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học cho việc tuyển chọn và phát triển các chủng *Trichoderma* bản địa làm nguồn vật liệu phục vụ sản xuất chế phẩm sinh học phòng trừ bệnh do *Pythium* và *Phytophthora* gây ra trên sầu riêng.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục thực hiện các nghiên cứu trong điều kiện nhà lưới và ngoài đồng ruộng nhằm đánh giá hiệu quả kiểm soát bệnh, khả năng thích nghi và tính ổn định của các chủng triển vọng trước khi đưa vào ứng dụng thực tiễn sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lê Thanh Bình, Trương Minh Ngọc, Hồ Thị Nguyệt, Lê Thị Huyền, 2022. *Trichoderma asperellum* T10 - Apotential microbial strain against the *Neoscytalidium dimidiatum* causes white spot disease on dragon fruit in Binh Thuan province. *Ministry of Science and Technology, Vietnam*, 64 (10): 14-19. [https://doi.org/10.31276/vjst.64\(10db\).14-19](https://doi.org/10.31276/vjst.64(10db).14-19).
- Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2022. *Khắc phục bệnh thối rễ trên cây sầu riêng*. Địa chỉ: <https://www.mard.gov.vn/Pages/khac-phuc-benh-thoi-re-tren-cay-sau-rieng.aspx> (Ngày truy cập 01/02/2025).
- Burgess L.W., Knight T.E., Tesoriero L., Phan Thúy Hiền, 2009. *Cẩm nang chẩn đoán bệnh cây ở Việt Nam*. Chuyên khảo ACIAR số 129a. ACIAR, Canberra (Australia), 210 pp.
- Nguyễn Đức Huy, Phạm Quang Nguyên, Nguyễn Thị Thanh Hồng, Hà Giang, Nguyễn Văn Viên, Nguyễn Tất Cảnh, 2017. Phân lập và đánh giá khả năng đối kháng của *Trichoderma asperellum* đối với tác nhân gây bệnh có nguồn gốc trong đất. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 15 (12): 1593-1604.
- Dương Minh, Lê Phước Thạnh, Hồ Văn Thiệt, Lê Bảo Ti & Võ Thị桂, 2006. Tác động của các chủng nấm đối kháng *Trichoderma* nội địa trong việc phòng trị bệnh *Phytophthora palmivora* gây hại sầu riêng tại Cần Thơ và Bến Tre. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 6: 154-161.
- Nguyễn Đăng Nghĩa, Nguyễn Thị Hồng Minh, Phạm Phương Thảo, 2016. Xu hướng phát triển nông nghiệp hữu cơ và sản xuất nông sản sạch tại Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Đại học Thủ Dầu Một*, 1 (26): 3-10.
- TCVN 13268-4:2021. Tiêu chuẩn Quốc gia về Bảo vệ thực vật - Phương pháp điều tra sinh vật gây hại - Phần 4: Nhóm cây ăn quả.
- Lê Đình Thảo, Lê Thu Hiền, Nguyễn Văn Liêm, Hà Minh Thanh, Trần Ngọc Khánh, Võ Thị Thu Bình, Thiệu Thị Thu Trang, Phạm Thị Anh, 2020. First report of *Phytophthora vexans* causing root rot disease on durian in Vietnam. *Plant Disease*, 107(9): 2891. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-22-0371-PDN>
- Phạm Thị Lý Thu, Nguyễn Thị Hồng Minh, Nguyễn Đức Anh, Đào Thị Thu Hằng, Nguyễn Đức Thành, Nguyễn Thị Bích Ngọc, Lưu Thị Mỹ Dung, Nguyễn Thị Hồng Hải, Nguyễn Thế Quyết, Chu Đức Hà, Lê Thị Minh Thành, 2022. Phân lập và định danh nấm *Trichoderma* đối kháng với tác nhân gây bệnh vàng lá, thối rễ trên cây có múi tại một số tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 05 (138): 50-55.

- Huỳnh Phi Yến**, 2019. Thực trạng ô nhiễm và suy thoái môi trường đất trong phát triển nông nghiệp ở tỉnh Vĩnh Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Sư phạm TP. Hồ Chí Minh*, 16(9): 467. [https://doi.org/10.54607/hcmue.js.16.9.2407\(2019\)](https://doi.org/10.54607/hcmue.js.16.9.2407(2019)).
- Ahmed A.S., Pérez-Sánchez C., Egea C., Candela M.E.**, 1999. Evaluation of *Trichoderma harzianum* for controlling root rot caused by *Phytophthora capsici* in pepper plants. *Plant Pathology*, 48 (1): 58-65.
- Bhat K.**, 2017. A new agar plate assisted slide culture technique to study mycoparasitism of *Trichoderma* sp. on *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporium*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6 (8): 3176-3180. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.608.378>
- Brotman Y., Kapuganti J.G., Viterbo A.**, 2010. *Trichoderma*. *Current Biology*, 20 (9): R390-R391.
- Drenth A. & Sendall B.**, 2001. *Practical Guide to Detection and Identification of Phytophthora* (version 1). CRC for Tropical Plant Protection, Brisbane, Australia, 41 pp.
- Gao F., Hao Z., Sun X., Qin L., Zhao T., Liu W., Su X.**, 2018. A versatile system for fast screening and isolation of *Trichoderma reesei* cellulase hyperproducers based on DsRed and fluorescence-assisted cell sorting. *Biotechnology for Biofuels*, 11: 1-13. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1264-z>.
- Guest D.I., Chau N.M., Sangchote S., Vawdrey L., Diczbalis Y.**, 2004. Integrated management of *Phytophthora* diseases of durian: recommendations and benefit - cost analysis. In *Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia*. A. Drenth & D. I. Guest (Eds.). ACIAR Monograph, 114: 222-226.
- Jiang H., Zhang L., Zhang J., Ojaghian, M.R., & Hyde K.D.**, 2016. Antagonistic interaction between *Trichoderma asperellum* and *Phytophthora capsici* in vitro. *Journal of Zhejiang University: Science B*, 17 (4): 271-281. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1500243>
- Kumar S., Stecher G., Suleski M., Sanderford M., Sharma S., Tamura K.**, 2024. MEGA12: Molecular evolutionary genetic analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution*, 41 (12). <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>.
- Liu Y., He P., He P., Munir S., Ahmed A., Wu Y., Yang Y., Lu J., Wang J., Yang J., Pan X., Tian Y., He Y.**, 2022. Potential biocontrol efficiency of *Trichoderma* species against Oomycete pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 13: 11 pp. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.974024>.
- Luong T.M., Huynh L.M.T., Hoang H.M.T., Tesoriero L.A., Burgess L.W., Phan H.T., Davies P.**, 2010. First report of *Pythium* root rot of chrysanthemum in Vietnam and control with metalaxyl drench. *Australasian Plant Disease Notes*, 5 (1): 51-54. <https://doi.org/10.1071/DN10019>.
- Manzar N., Kashyap A.S., Goutam R.S., Rajawat M.V.S., Sharma P.K., Sharma S.K., Singh H.V.**, 2022. *Trichoderma*: Advent of versatile biocontrol agent, its secrets and insights into mechanism of biocontrol potential. *Sustainability (Switzerland)*, 14 (19): 1-32. <https://doi.org/10.3390/su141912786>.
- Mukhopadhyay R. & Kumar D.**, 2020. *Trichoderma*: a beneficial antifungal agent and insights into its mechanism of biocontrol potential. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30 (1): 8 pp.. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00333-x>.
- Nascimento V.C., Rodrigues-Santos K.C., Carvalho-Alencar K.L., Castro M.B., Kruger R.H., Lopes F.A.C.**, 2022. *Trichoderma*: biological control efficiency and perspectives for the Brazilian Midwest states and Tocantins. *Brazilian Journal of Biology*, 82: 1-9. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.260161>.
- Panchalingam H., Powell D., Adra C., Foster K., Tomlin R., Quigley B.L., Nyari S., Hayes R.A., Shapcott A., Kurtböke D.İ.**, 2022. Assessing the various antagonistic mechanisms of *Trichoderma* strains against the brown root rot pathogen *Pyrrhoderma noxium* infecting heritage fig trees. *Journal of Fungi*, 8 (10): 1105. <https://doi.org/10.3390/jof8101105>
- Ratnadass A. & Sester M.**, 2023. Crop protection practices and risks associated with human fungal infectious diseases: A one health perspective. *Cahiers Agricultures*, 32: 10 pp. <https://doi.org/10.1051/cagri/2022036>.
- Siddiquee S.**, 2017. *Practical handbook of the biology and molecular diversity of Trichoderma species from tropical regions (in Fungal Biology, vol. 11)*. Springer International Publishing AG, Gewerbestrasse, Switzerland. DOI:10.1007/978-3-319-64946-7.
- Sutthisa W., Kunseekhaw B., Khankhum S., Pimvichai P., Yutthasin R.**, 2024. Assessment of *Trichoderma* species isolated from volcanic soil of a durian field in Sisaket province, Thailand for plant growth promotion and biocontrol potential. *Trends in Sciences*, 21(11). <https://doi.org/10.48048/tis.2024.8452>
- Tapwal A., Singh U., Teixeira J.A., Singh G., Garg S., Kumar R.**, 2011. In vitro antagonism of *Trichoderma viride* against five phytopathogens. *Pest Technology*, 5 (1): 59-62.
- Vittone G.**, 2008. *Genetic and functional analysis of siderophores in Trichoderma virens*. A senior honors thesis. Texas A&M University, 97 pp.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. W.**, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (M. Innis, D. Gelfand, J. Sninsky, and T. White, eds.). In Academic Press, Inc., New York (Vol. 64, Issue February), pp. 315-322.
- Yassin M.T., Mostafa A.A.F., Al-Askar A.A.**, 2022. In vitro antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against fungal pathogens causing black point disease of wheat. *Journal of Taibah University for Science*, 16 (1): 57-65. <https://doi.org/10.1080/16583655.2022.2029327>.

***In vitro* antagonistic potential of *Trichoderma* spp. against *Pythium* and *Phytophthora* causing diseases on durian**

Tran Minh Tin, Truong Phuc Thinh, Lam Phuoc Thanh, Le Phuoc Thanh

Abstract

This study was conducted to isolate *Trichoderma* strains inhabiting the rhizosphere soils of durian (*Durio zibethinus* Murray) orchards in Can Tho City and the provinces of Vinh Long and Dong Thap, and to evaluate their antagonistic activity against pathogenic oomycetes. Isolation from 41 rhizosphere soil samples revealed the presence of *Trichoderma* in all surveyed samples (100%), yielding a total of 100 isolates on selective medium. In vitro antagonistic assays against *Pythium deliense* PD1.2 identified 15 *Trichoderma* isolates exhibiting strong antagonistic activity after 72 h of incubation, accounting for 15% of the total isolates obtained. These isolates were subsequently evaluated against an additional *P. deliense* isolate (PD34.1) and four *Phytophthora* spp. isolates (PD13.2, PD13.4, PD26.2, and PD35.6). All 15 selected isolates consistently showed high antagonistic efficacy, ranging from 49.4% to 55.0% after 72 h of incubation. Microscopic observations at the interaction zone between the antagonist and pathogen hyphae after 148 h revealed mycoparasitic activity, resulting in complete destruction of the *Pythium/Phytophthora* hyphae. Molecular identification based on ITS region sequencing using the ITS1/ITS4 primer pair demonstrated that 9 of the 15 representative isolates belonged to *Trichoderma asperellum*, showing 100% query coverage and 99.64–100% sequence similarity with reference sequences deposited in GenBank. These findings indicate that *T. asperellum* is a promising indigenous biocontrol agent for the sustainable management of durian diseases caused by *Pythium* and *Phytophthora* species.

Keywords: *Pythium deliense*, *Phytophthora* sp., antagonism, *Trichoderma asperellum*, PCR-Sequencing

Ngày nhận bài: 06/5/2026

Người phản biện: PGS.TS. Trần Thị Thu Hà, TS. Nguyễn Đức Huy

Ngày duyệt đăng: 11/6/2026

Ngày phản biện: 08/5/2026

KHẢ NĂNG TỒN LƯU CỦA NẤM *Neopestalotiopsis saprophytica* TRÊN TÀN DƯ THỰC VẬT VÀ BIỆN PHÁP XỬ LÝ

Nguyễn Mạnh Hùng^{1*}, Lê Thị Hằng¹, Nguyễn Hồng Tuyên¹, Ngô Quang Huy¹, Trịnh Xuân Hoạt¹, Lưu Ngọc Sinh², Nguyễn Hoàng Phú³, Bùi Văn Sơn³, Hoàng Thăng Long³

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định khả năng tồn lưu, phát tán của bào tử nấm *Neopestalotiopsis saprophytica*, gây bệnh rụng lá Pestalotiopsis trên cây cao su và đánh giá hiệu quả của biện pháp xử lý nguồn bệnh trên tàn dư thực vật. Vị trí vết bệnh trên lá cao su ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng rụng lá, trong đó các vết bệnh xuất hiện tại vùng gân chính có tỷ lệ cao nhất, đạt 46,9%. Nấm *N. saprophytica* có khả năng tồn lưu trên tàn dư thực vật trong vườn cao su ít nhất 12 tháng. Mật độ bào tử biến động theo thời gian trong năm và phụ thuộc vào lượng mưa, ẩm độ không khí với mật độ cao nhất ghi nhận vào tháng 8, đạt $6,5 \pm 0,3 \times 10^4$ CFU/g. Bào tử nấm có khả năng phát tán đến độ cao 180 cm, trong đó mật độ bào tử tập trung chủ yếu ở độ cao 40 cm so với mặt đất. Biện pháp gom tàn dư thực vật thành băng giữa hai hàng cao su kết hợp xử lý bằng chế phẩm sinh học *Trichoderma* spp. cho hiệu quả cao trong xử lý nguồn bệnh, làm giảm 87,6% mật độ bào tử sau 5 tháng theo dõi. Kết quả là cơ sở để xuất các biện pháp quản lý bệnh hiệu quả và bền vững.

Từ khóa: Bệnh rụng lá Pestalotiopsis, *Neopestalotiopsis saprophytica*, tàn dư thực vật, bào tử nấm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh rụng lá Pestalotiopsis xuất hiện và gây hại trên cây cao su tại Việt Nam từ năm 2021 với các triệu chứng là đốm tròn trên lá và rụng lá sớm hàng loạt; các triệu chứng này tương đồng với bệnh rụng lá do nấm *Pestalotiopsis* gây ra, đã được ghi nhận và cảnh báo tại các nước trồng cao su trong khu vực Đông Nam Á (Seelan *et al.*, 2021; Nguyễn Đôn Hiệu và cs., 2022). Nấm *Neopestalotiopsis saprophytica* đã được xác định là

tác nhân gây bệnh rụng lá Pestalotiopsis trên cây cao su tại Việt Nam (Hung *et al.*, 2026). Trong thực tế sản xuất cao su tại Việt Nam, các biện pháp phòng trừ là sử dụng thuốc hóa học phun trên tán lá mà chưa quan tâm đến việc xử lý nguồn bệnh ban đầu. Tàn dư thực vật được xem là nơi tồn lưu quan trọng của nấm gây bệnh. Việc quản lý tàn dư thực vật trong vườn cao su chưa được chú trọng đúng mức, như không tiến hành thu gom và xử lý nguồn bệnh sau khi lá rụng, đã tạo điều kiện thuận lợi

¹ Viện Bảo vệ Thực vật; ² Trường Đại học Thủ Đức; ³ TNHH MTV VRG Cao su Đồng Nai

*Tác giả liên hệ, email: nm_hunghau1@yahoo.com