

# *Trichoderma asperellum* T10 - Chủng vi sinh tiềm năng đối kháng với nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm trắng trên thanh long ở Bình Thuận

Lê Thanh Bình\*, Trương Minh Ngọc, Hồ Thị Nguyệt, Lê Thị Huyền

Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 4/7/2022; ngày chuyển phản biện 7/7/2022; ngày nhận phản biện 29/7/2022; ngày chấp nhận đăng 4/8/2022

## **Tóm tắt:**

Chủng *Trichoderma asperellum* T10 được phân lập từ đất trồng thanh long ở tỉnh Bình Thuận có khả năng đối kháng mạnh với nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm trắng trên thanh long. Kết quả nghiên cứu cho thấy, *T. asperellum* T10 có hiệu suất đối kháng cao với nấm bệnh là 100%, đường kính vòng vô khuẩn đạt 28,00 mm ở điều kiện phòng thí nghiệm. *T. asperellum* T10 có hiệu quả phòng trị bệnh đốm trắng ở điều kiện nhà màng, giảm tỷ lệ bệnh 28-40% và giảm chỉ số bệnh 23-33% so với đối chứng. *T. asperellum* T10 được đề nghị là chủng vi sinh tiềm năng để làm chế phẩm vi sinh phòng trị bệnh đốm trắng trên thanh long.

**Từ khóa:** bệnh đốm trắng, Bình Thuận, *Neoscytalidium dimidiatum*, thanh long, *Trichoderma asperellum*.

**Chỉ số phân loại:** 1.6

## **Đặt vấn đề**

Thanh long là một trong những cây ăn quả cho giá trị xuất khẩu cao của tỉnh Bình Thuận. Trên cây thanh long, bệnh đốm trắng do nấm *N. dimidiatum* gây ra được xem là bệnh nguy hiểm [1]. Nhiều phương pháp khác nhau được sử dụng để phòng trị nấm *N. dimidiatum*. Phương pháp điều trị bằng hóa học là hiệu quả nhất, nhưng mang lại nhiều tác dụng phụ gây ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng trực tiếp đến sức khỏe con người và tăng nguy cơ xuất hiện các mầm bệnh kháng thuốc. Do đó, việc kiểm soát bệnh bằng phương pháp sinh học như sử dụng vi sinh vật đối kháng là biện pháp phù hợp [1-3].

Nhiều nghiên cứu cho thấy, một số chủng *Trichoderma* có khả năng kiểm soát vi sinh vật gây bệnh trên cây trồng [4, 5]. Trong số đó, chủng *T. asperellum* được đánh giá là chủng có tiềm năng phòng trị một số bệnh, khả năng sinh trưởng nhanh và hình thành số lượng bào tử lớn [6]. Chủng *T. asperellum* có khả năng đối kháng cao với nấm *Penicillium digitatum* và *Colletotrichum gloeosporioides* [7], phòng trị vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* trên gừng [8], giảm 74% tỷ lệ nấm *Sclerotium cepivorum* trên cây hành trong điều kiện nhà kính, giảm tỷ lệ bệnh thối trắng 3,41 và 3,61% so với cây hành được xử lý bằng thuốc diệt nấm hóa học [9], có khả năng đối kháng mạnh với *Fusarium oxysporum* trên cà chua [10].

Hiện nay chưa có nghiên cứu nào công bố về chủng *T. asperellum* đối kháng với nấm *N. dimidiatum* gây bệnh đốm trắng trên thanh long ở tỉnh Bình Thuận. Trong nghiên cứu này, chủng nấm *T. asperellum* được phân lập, định danh và xác định hiệu quả đối kháng với *N. dimidiatum* được thực hiện.

## **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu**

### **Đối tượng**

Chủng nấm *N. dimidiatum* MB1 (từ Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại TP Hồ Chí Minh [11]) được phân lập từ mẫu thanh

long bệnh tại tỉnh Bình Thuận, có độc lực gây nhiễm bệnh là 100% và được định danh sinh học phân tử đến loài. Chủng *Trichoderma* spp. được phân lập từ các mẫu đất vườn trồng thanh long và đất rừng Tà Cú ở tỉnh Bình Thuận được dùng để tuyển chọn khả năng đối kháng *N. dimidiatum* MB1.

### **Phương pháp nghiên cứu**

**Phân lập và sàng lọc các chủng có khả năng là nấm *Trichoderma* từ mẫu đất:** Pha loãng mẫu đất và cây trái trên môi trường: PGA (thành phần: 200 g khoai tây, 20 g glucose, 20 g agar, 1.000 ml nước), ủ ở nhiệt độ 22-25°C, quan sát khuẩn lạc trên môi trường PGA sau 48-72 giờ, phân lập vi nấm từ những khuẩn lạc riêng lẻ trên đĩa thạch sau khoảng thời gian 4-10 ngày. Xác nhận dòng vi nấm *Trichoderma* spp. dựa trên các đặc điểm hình thái và vi thể [6].

**Nghiên cứu khả năng đối kháng *N. dimidiatum* của các chủng vi sinh tuyển chọn ở điều kiện phòng thí nghiệm:**

- Phương pháp đối kháng trực tiếp: Cây nấm bệnh và các chủng vi nấm tiềm năng trên 2 điểm đối xứng nhau qua tâm đĩa petri, các điểm cách mép đĩa 1,5 cm. Đối chứng là đĩa chỉ được cấy riêng nấm bệnh, ủ ở nhiệt độ phòng trong điều kiện tối. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, kết quả là giá trị trung bình của 3 lần lặp. Quan sát và ghi nhận kết quả sau 2, 4 và 6 ngày. Tính hiệu quả ức chế nấm bệnh theo công thức sau [5]:

$$H = (Ddc - D)/Ddc * 100$$

trong đó: H: hiệu quả ức chế (%); Ddc: đường kính khuẩn lạc nấm bệnh trung bình trên đĩa đối chứng (mm); D: đường kính khuẩn lạc nấm bệnh trung bình trên đĩa đối kháng (mm).

- Phương pháp khuếch tán qua lỗ thạch: Nuôi cấy chủng vi nấm tiềm năng trên môi trường PGA lỏng trong 48 giờ. Sau đó ly tâm (8.000 vòng/phút trong 5 phút) để loại bỏ sinh khối thu dịch nổi. Nuôi cấy nấm bệnh *N. dimidiatum* trên đĩa môi trường PGA,

\*Tác giả liên hệ: thanhbinhbiogg@gmail.com

# *Trichoderma asperellum* T10 - A potential microbial strain against the *Neoscytalidium dimidiatum* causes white spot disease on dragon fruit in Binh Thuan province

Thanh Binh Le\*, Minh Ngoc Truong,  
Thi Nguyet Ho, Thi Huyen Le

National Center for Technological Progress - Ho Chi Minh Branch

Received 4 July 2022; accepted 4 August 2022

## Abstract:

The *Trichoderma asperellum* T10 isolated from soil for dragon fruit growth in Binh Thuan province, has a strong antagonistic ability against the *Neoscytalidium dimidiatum*, causing the white spot disease on dragon fruit. The results showed that *T. asperellum* T10 had a high antagonistic effect against fungal pathogens of 100%, and the inhibitory zone diameter reached 28.00 mm in laboratory conditions. *T. asperellum* T10 has been influential in the prevention and treatment of white spot disease in greenhouse conditions and reducing disease rates by 28-40% and disease index by 23-33% compared to the control. *T. asperellum* T10 is proposed as a potential strain of a microbial product for the prevention and treatment of white spot disease on dragon fruit.

**Keywords:** Binh Thuan, dragon fruit, *Neoscytalidium dimidiatum*, *Trichoderma asperellum*, white spot disease.

**Classification number:** 1.6

thu lấy bào tử, pha loãng để đạt nồng độ  $10^5$  CFU/ml. Phương pháp thu bào tử và pha loãng xác định nồng độ bào tử nấm: Nấm được nuôi cấy trên đĩa môi trường PGA ở 25-28°C khoảng 4 ngày, dùng gạt thủy tinh vô trùng cao lớp bào tử, cho thêm vào 5 ml nước cất vô trùng, tiến hành lọc qua màng lọc Mira cloth (Calbiochem, Đức), tiếp tục thu bào tử bằng cách ly tâm 4000 vòng/phút trong 10 phút, sau đó rửa bào tử 2 lần bằng nước cất vô trùng, dung dịch bào tử được xác định số lượng bào tử dưới kính hiển vi bằng buồng đếm hồng cầu, pha loãng dung dịch bào tử bằng nước cất vô trùng đạt  $10^7$  CFU/ml, để trong tủ mát -4°C, khi sử dụng pha loãng với nước cất vô trùng đạt  $10^5$  CFU/ml. Hút 0,1 ml dung dịch chứa bào tử *N. dimidiatum* trải đều trên đĩa petri chứa môi trường PGA. Tạo những giếng nhỏ có đường kính 8 mm. Nhỏ 0,1 ml dịch nuôi cấy các chủng vi nấm đối kháng đã loại sinh khối. Ủ đĩa ở 4°C trong 15 phút cho dịch trong giếng khuếch tán. Sau đó ủ ở nhiệt độ phòng trong 24-48 giờ cho vi nấm *N. dimidiatum* phát triển. Chủng vi nấm nếu có khả năng sinh ra chất kháng khuẩn để ức chế *N. dimidiatum* sẽ xuất hiện vòng kháng khuẩn xung quanh

lỗ thạch. Đo kích thước vòng vô khuẩn xung quanh giếng. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần đối với mỗi chủng cần chọn lọc, kết quả là giá trị trung bình cộng của các lần lặp lại. Tính kích thước vòng vô khuẩn = D-d. Trong đó, D: đường kính vòng đối kháng (mm); d: đường kính lỗ (mm).

Từ phương pháp đối kháng trực tiếp và khuếch tán qua lỗ thạch, tuyển chọn chủng *Trichoderma* có khả năng đối kháng mạnh với nấm bệnh *N. dimidiatum* để tiến hành định danh đến loài. Các chủng vi nấm được định danh đến loài bằng phương pháp giải trình tự vùng ITS-rDNA tại Trung tâm Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.

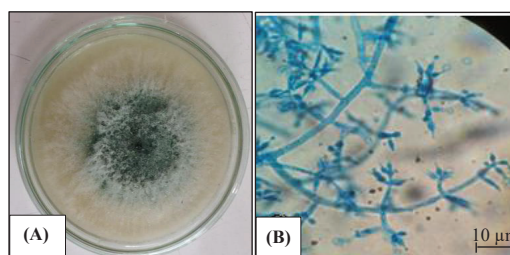
*Nghiên cứu khả năng phòng trị bệnh đốm trắng trên cây thanh long của chủng Trichoderma ở điều kiện nhà màng:* Đối với thí nghiệm phòng bệnh, phun kết hợp tưới gốc *Trichoderma*, sau 10 ngày tiến hành phun kết hợp tưới gốc bào tử vi nấm *N. dimidiatum* lên toàn bộ cây thí nghiệm với nồng độ phun  $10^5$  CFU/ml (đối với thí nghiệm trị bệnh, phun *N. dimidiatum* trước, sau đó phun xử lý *Trichoderma*). Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên hoàn toàn theo khối, mỗi ô gồm 5 cây với 5 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức. Theo dõi tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh đốm trắng sau 10, 20 và 30 ngày sau khi xử lý vi nấm.

*Phương pháp xử lý số liệu:* Các số liệu thí nghiệm được đánh giá bằng các phương pháp thống kê phân tích biến lượng (Analysis of Variance - ANOVA), so sánh trung bình theo phương pháp trắc nghiệm Duncan. Các số liệu ghi nhận được xử lý bằng phần mềm SPSS phiên bản 19.

## Kết quả

**Phân lập và sàng lọc các chủng nấm có khả năng là *Trichoderma***

Từ 20 mẫu đất thu ở tỉnh Bình Thuận, phân lập được 69 chủng có khả năng là *Trichoderma* qua quan sát các đặc điểm hình dạng khuẩn lạc trên thạch, nhuộm và quan sát đặc điểm tơ nấm, bào tử dưới kính hiển vi quang học ở vật kính x40 và x100. Các khuẩn lạc ban đầu có màu trắng, khi sinh bào tử thì chuyển sang xanh đậm, xanh vàng hoặc lục trắng (hình 1A và 1B). Trong đó, mẫu đất vườn phân lập được 40 chủng (57,97%), đất rừng Tà Cú phân lập được 29 chủng 42,03% (bảng 1).



**Hình 1.** Hình dạng khuẩn lạc của chủng ĐV8T1 (A); tơ nấm, thể binh và bào tử chủng ĐV8T1 dưới kính hiển vi quang học ở vật kính x100 (B).

**Bảng 1.** Kết quả sàng lọc các chủng *Trichoderma* từ 20 mẫu đất tinh Bình Thuận.

TT	Mẫu đất vườn		Mẫu đất rừng Tà Cú	
	Ký hiệu	Số chủng	Ký hiệu	Số chủng
1	ĐV1	2	ĐR1	4
2	ĐV2	8	ĐR2	9
3	ĐV3	4	ĐR3	0
4	ĐV4	2	ĐR4	1
5	ĐV5	2	ĐR5	1
6	ĐV6	0	ĐR6	0
7	ĐV7	1	ĐR7	0
8	ĐV8	10	ĐR8	1
9	ĐV9	9	ĐR9	1
10	ĐV10	2	ĐR10	12
<b>Tổng</b>		<b>40</b>		<b>29</b>

**Nghiên cứu khả năng đối kháng vi nấm *N. dimidiatum* của các chủng *Trichoderma***

Kết quả đối kháng được xác định thông qua hiệu quả ức chế và đường kính vòng kháng khuẩn. Kết quả đối kháng của 19 chủng *Trichoderma* có hiệu quả đối kháng mạnh trong 69 chủng phân lập được thể hiện ở bảng 2 và 3.

**Bảng 2.** Khả năng ức chế nấm *N. dimidiatum* gây bệnh đốm trắng trên cây thanh long của 19 chủng *Trichoderma* spp. đối kháng mạnh (phương pháp đối kháng trực tiếp).

TT	Phương pháp đối kháng trực tiếp		
	Tên chủng	Hiệu quả ức chế sau 4 ngày (%)	Hiệu quả ức chế sau 6 ngày (%)
1	ĐV8T1	71,85 <sup>a</sup>	100,00 <sup>a</sup>
2	ĐR10T6	68,52 <sup>abc</sup>	100,00 <sup>a</sup>
3	ĐV4T2	63,70 <sup>abcd</sup>	100,00 <sup>a</sup>
4	ĐV4T1	61,85 <sup>abcd</sup>	100,00 <sup>a</sup>
5	ĐR2T5	59,63 <sup>abcd</sup>	100,00 <sup>a</sup>
6	ĐR2T9	59,26 <sup>abcd</sup>	100,00 <sup>a</sup>
7	ĐR2T4	61,85 <sup>abcd</sup>	98,89 <sup>ab</sup>
8	ĐV3T2	66,67 <sup>abcd</sup>	95,19 <sup>abc</sup>
9	ĐR2T7	57,04 <sup>bcd</sup>	94,81 <sup>abc</sup>
10	ĐR9T1	65,56 <sup>abcd</sup>	94,44 <sup>abc</sup>
11	ĐV8T7	65,19 <sup>abcd</sup>	93,70 <sup>abc</sup>
12	ĐR2T6	61,48 <sup>abcd</sup>	93,70 <sup>abc</sup>
13	ĐR2T3	57,78 <sup>bcd</sup>	93,70 <sup>abc</sup>
14	ĐV9T5	57,41 <sup>bcd</sup>	93,33 <sup>abc</sup>
15	ĐV2T6	66,67 <sup>abcd</sup>	92,59 <sup>abcd</sup>
16	ĐV9T3	58,52 <sup>abcd</sup>	92,59 <sup>abcd</sup>
17	ĐV8T5	61,85 <sup>abcd</sup>	91,85 <sup>abcd</sup>
18	ĐV7T1	60,37 <sup>abcd</sup>	91,48 <sup>abcd</sup>
19	ĐV5T2	60,37 <sup>abcd</sup>	90,74 <sup>abcd</sup>

Ghi chú: trong cùng một cột, các giá trị trung bình có ký tự theo sau khác nhau có sự khác biệt về mặt thống kê (p<0,05).

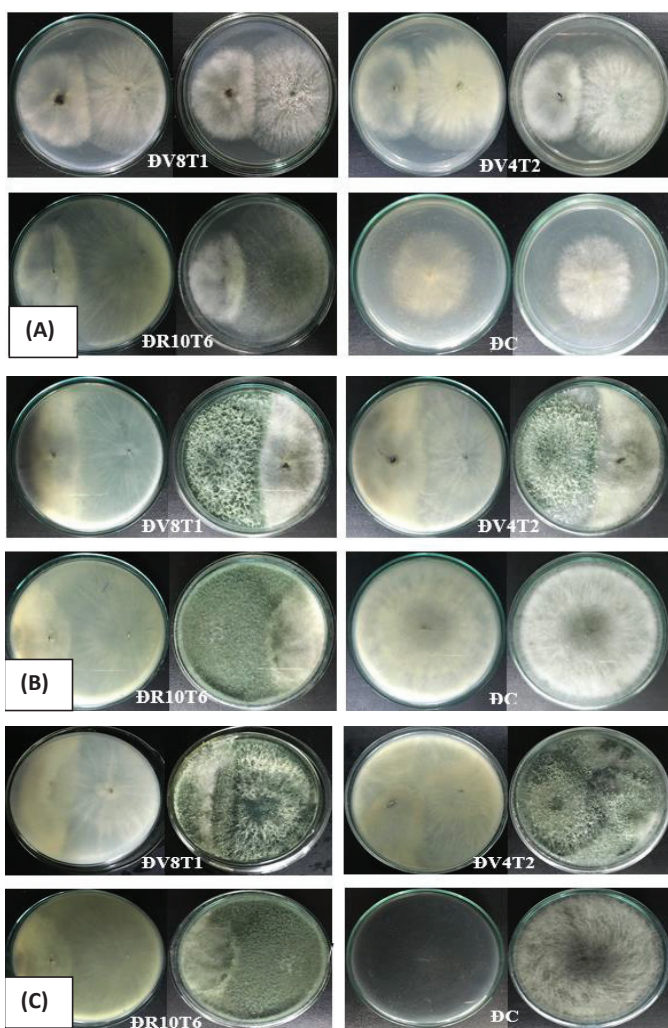
**Bảng 3.** Khả năng ức chế nấm *N. dimidiatum* gây bệnh đốm trắng trên cây thanh long của 19 chủng *Trichoderma* spp. đối kháng mạnh (phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch).

TT	Phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch	
	Tên chủng	(D-d) (mm)
1	ĐV8T1	28,0 <sup>a</sup> ±2,27
2	ĐV9T4	27,5 <sup>ab</sup> ±1,93
3	ĐR10T5	25,5 <sup>abc</sup> ±0,96
4	ĐV7T1	25,0 <sup>abcd</sup> ±2,48
5	ĐV3T4	23,5 <sup>abcde</sup> ±3,10
6	ĐV2T1	23,5 <sup>abcde</sup> ±1,71
7	ĐV8T2	22,8 <sup>abcdef</sup> ±2,81
8	ĐV9T8	22,3 <sup>abcdefg</sup> ±2,32
9	ĐR10T7	20,0 <sup>abcdefgh</sup> ±1,18
10	ĐV8T7	19,8 <sup>abcdefgh</sup> ±2,29
11	ĐV2T4	19,8 <sup>abcdefgh</sup> ±3,71
12	ĐV2T2	19,8 <sup>abcdefgh</sup> ±2,56
13	ĐV9T2	19,8 <sup>abcdefgh</sup> ±1,18
14	ĐV9T1	18,8 <sup>bcdefgh</sup> ±0,48
15	ĐV8T10	18,8 <sup>bcdefgh</sup> ±2,17
16	ĐV9T3	18,5 <sup>cdefgh</sup> ±3,84
17	ĐR9T1	18,5 <sup>cdefgh</sup> ±2,02
18	ĐV9T5	18,3 <sup>cdefgh</sup> ±2,06
19	ĐV9T6	18,0 <sup>cdefgh</sup> ±3,19

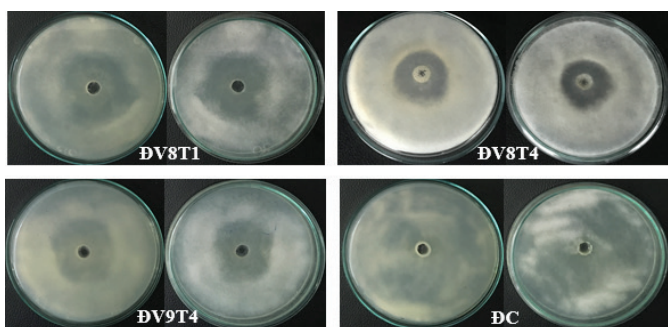
Ghi chú: trong cùng một cột, các giá trị trung bình có ký tự theo sau khác nhau có sự khác biệt về mặt thống kê (p<0,05).

Qua quan sát sau khi cấy 2 ngày (hình 2 và bảng 2) cho thấy, cả 2 loại nấm *Trichoderma* và *N. dimidiatum* đều phát triển và lan nhanh trên môi trường, giữa vùng nấm bệnh và nấm đối kháng hình thành một đường ranh giới rõ. Sau 2 ngày, tất cả các chủng thử nghiệm đều bắt đầu ghi nhận có khả năng đối kháng *N. dimidiatum*. Sau 4 ngày, hiệu quả ức chế nấm bệnh lớn hơn 57%. Sau 6 ngày, hiệu quả đối kháng ghi nhận rất cao, trong đó có 6 chủng là ĐV8T1, ĐR10T6, ĐV4T2, ĐV4T1, ĐR2T5, ĐR2T9 ức chế hoàn toàn nấm *N. dimidiatum* (hiệu quả đối kháng 100%).

Kết quả bảng 3 và hình 3 cho thấy, sau 4 ngày nuôi cấy, tất cả các chủng thử nghiệm đều có khả năng sinh ra chất kháng khuẩn kháng nấm *N. Dimidiatum* chiếm tỷ lệ 100% với đường kính vòng vô khuẩn lớn hơn 18 mm. Trong đó, chủng ĐV8T1 cho kết quả đối kháng mạnh nhất với (D-d)=28,00 mm.



**Hình 2.** Chủng *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *N. dimidiatum* bằng phương pháp đối kháng trực tiếp. (A) Sau 2 ngày; (B) Sau 4 ngày; (C) Sau 6 ngày. Mũi tên vàng chỉ chủng nấm *N. dimidiatum*; ĐC là chủng nấm *N. dimidiatum* đối chứng; chủng không có mũi tên là nấm *Trichoderma* spp.

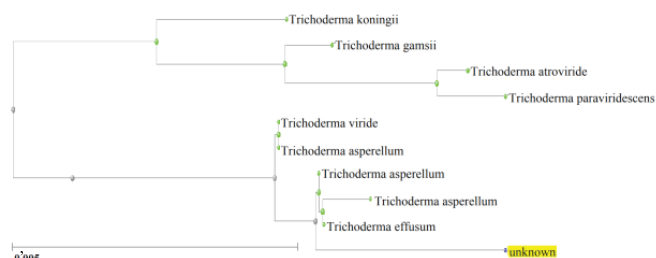


**Hình 3.** Chủng *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *N. dimidiatum* bằng phương pháp khuếch tán qua lỗ thạch.

Từ 2 phương pháp thí nghiệm khảo sát khả năng đối kháng nấm *N. dimidiatum* của các chủng *Trichoderma* cho thấy, ĐV8T1 là chủng có khả năng đối kháng mạnh nhất ở cả 2 phương pháp. Chủng nấm ĐV8T1 được định danh đến

loài bằng phương pháp phân tích trình tự vùng ITS-rDNA, so sánh trình tự DNA của chủng ĐV8T1 với những dòng *Trichoderma* trên cơ sở dữ liệu NCBI.

Qua cây phát sinh chủng loại (hình 4), chủng ĐV8T1 có quan hệ gần nhất với chủng *T. asperellum* FT101. Tiếp tục so sánh trình tự ĐV8T1 và chủng *T. asperellum* FT101 (hình 5), kết quả cho thấy có 14 nucleotic khác nhau trong số 1114 nucleotic, chiếm gần 1%. Qua đặc điểm đại thể vi nấm và đặc điểm vi thể, trong nghiên cứu này xác định chủng ĐV8T1 là loài *T. asperellum* T10.



**Hình 4.** Cây phát sinh chủng loại của chủng ĐV8T1 (unknown là chủng ĐV8T1).

Score	Identities	Gaps	Strand
1940 bits (1050)	1095/1114 (98%)	14/1114 (1%)	Plus/plus
Query 12	AACCC-ATGTG-ACGTTACCAACGTTGTGCTCGGGGGGTACGCCCCGGGTGC		69
Sbjct 2037153	AACCCAAATGTGAACGTTACCAACGTTGTGCTCGGGGGGTACGCCCCGGGTGC		2037212
Query 70	AGCCCCGGAACAGGC GCCCGGGGAAACCAACCAACTTTCTGTAGTCCCTCG		129
Sbjct 2037213	AGCCCCGGAACAGGC GCCCGGGGAAACCAACCAACTTTCTGTAGTCCCTCG		2037272
Query 130	GGAGTATTTCTTTACAGCTCTGAGCAAAAAATCAAAATGAATCAAAATTTCAACAAG		189
Sbjct 2037273	GGAGTATTTCTTTACAGCTCTGAGCAAAAAATCAAAATGAATCAAAATTTCAACAAG		2037332
Query 190	GATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTAATTG		249
Sbjct 2037333	GATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTAATTG		2037392
Query 250	CAGAAATCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCCGCCAGTATTCGGCGG		309
Sbjct 2037393	CAGAAATCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCCGCCAGTATTCGGCGG		2037452
Query 310	GCATGCCGTGCCGAGCGTCAATTTCAACCTCGCAACCCCTCGGGGGATCGGGTCTGGGA		369
Sbjct 2037453	GCATGCCGTGCCGAGCGTCAATTTCAACCTCGCAACCCCTCGGGGGATCGGGTCTGGGA		2037512
Query 370	TCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGCCCTAAATCAGTGGCGGTCTCGCCGCGAGCTCT		429
Sbjct 2037513	TCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGCCCTAAATCAGTGGCGGTCTCGCCGCGAGCTCT		2037572
Query 430	CCTGCCAGTAGTATTGCAACAACCTCGACGGGAGCGCGCGCTCAACGCTCGTAAACA		489
Sbjct 2037573	CCTGCCAGTAGTATTGCAACAACCTCGACGGGAGCGCGCGCTCAACGCTCGTAAACA		2037632
Query 490	CCCAACTTTCTGAAATGTTGACTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAATTAAGCATA		549
Sbjct 2037633	CCCAACTTTCTGAAATGTTGACTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAATTAAGCATA		2037692
Query 550	TCAATAAGCGGAGGAAAAGAACCAACAGGGATTGCCCAAGTAAAGCGGAGTGAAAGCGG		609
Sbjct 2037693	TCAATAAGCGGAGGAAAAGAACCAACAGGGATTGCCCAAGTAAAGCGGAGTGAAAGCGG		2037752
Query 610	AACAGCTCAAAATTTGAAATCTGGCCCCCTCCGGGTCCGAGTGTAAATTTGTAGAGGATGCT		669
Sbjct 2037753	AACAGCTCAAAATTTGAAATCTGGCCCCCTCCGGGTCCGAGTGTAAATTTGTAGAGGATGCT		2037812
Query 670	TTTTGGTGAGGTGCCGCCGAGTTCCTGGAAAGGGACGCCACAGAGGGTGTAGAGCCCGT		729
Sbjct 2037813	TTTTGGTGAGGTGCCGCCGAGTTCCTGGAAAGGGACGCCACAGAGGGTGTAGAGCCCGT		2037872
Query 730	CTGGCTGGCCACCAGGCCCTGTAAAGCTCTTCCGACGAGTGTAGTATTGGGAATGCT		789
Sbjct 2037873	CTGGCTGGCCACCAGGCCCTGTAAAGCTCTTCCGACGAGTGTAGTATTGGGAATGCT		2037932
Query 850	CAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGACCTTGAAGAGGGGTTAAACAGTACGTGAAA		909
Sbjct 2037993	CAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGACCTTGAAGAGGGGTTAAACAGTACGTGAAA		2038052
Query 910	TTGTTGAAAGGGGAAAGCGCTTGTGACAGACCTGGGCGCGGCGATCATCCGGGGTCTTC		969
Sbjct 2038053	TTGTTGAAAGGGGAAAGCGCTTGTGACAGACCTGGGCGCGGCGATCATCCGGGGTCTTC		2038111
Query 970	TCCGGTGCACCTTCGC-GCCTTCAG-CCAGATCAGGTTCTCGCGGGGGAAAAAAGACTT		1027
Sbjct 2038112	TCCGGTGCACCTTCGC-GCCTTCAG-CCAGATCAGGTTCTCGCGGGGGAAAAAAGACTT		2038169
Query 1028	CGGGA-CGTGGCTCCCTCCCGGAGTGTATAGGCCGTTGATAATACC-TGCCGGATGA		1085
Sbjct 2038170	CGGGA-CGTGGCTCCCTCCCGGAGTGTATAGGCCGTTGATAATACC-TGCCGGATGA		2038226
Query 1086	CTGA-GACCCGCGATCTGCAAG-ATGCTGGCGTA 1117		
Sbjct 2038227	CTGAGACCCGCGATCTGCAAG-ATGCTGGCGTA 2038260		

**Hình 5.** Kết quả so sánh vùng trình tự ITS của chủng ĐV8T1 và chủng *T. asperellum* FT101.

**Nghiên cứu khả năng phòng bệnh đốm trắng trên cây thanh long của chủng *T. asperellum* T10 ở điều kiện nhà màng**

Tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh đốm trắng do *N. dimidiatum* gây ra trên các cây thanh long thí nghiệm sau 10, 20 và 30 ngày được thể hiện ở (bảng 4). Kết quả bảng 4 cho thấy, tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh đốm trắng ở các công thức có chiều hướng tăng dần qua các thời điểm theo dõi, công thức xử lý *T. asperellum* T10 có tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh tăng với chiều hướng thấp hơn so với công thức đối chứng chỉ sử dụng nước lã với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh ở công thức này tại thời điểm 30 ngày giảm tương ứng là 40 và 33% có sự khác biệt thống kê so với công thức đối chứng. Trong nghiên cứu này, *T. asperellum* T10 có hiệu quả phòng bệnh đốm trắng do nấm *N. dimidiatum* gây ra trên cây thanh long so với đối chứng có khác biệt thống kê.

**Bảng 4. Tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh khi sử dụng *T. asperellum* T10 để phòng bệnh đốm trắng trên thanh long trong nhà màng.**

Công thức	Tỷ lệ bệnh (%)		
	10 ngày	20 ngày	30 ngày
CT1: nước lã	60,0 <sup>b</sup>	80,0 <sup>b</sup>	100,0 <sup>b</sup>
CT2: <i>T. asperellum</i> T10	28,0 <sup>a</sup>	32,0 <sup>a</sup>	60,0 <sup>a</sup>
Công thức	Chỉ số bệnh (%)		
	10 ngày	20 ngày	30 ngày
CT1: nước lã	21,0 <sup>b</sup>	32,0 <sup>b</sup>	52,0 <sup>b</sup>
CT2: <i>T. asperellum</i> T10	7,0 <sup>a</sup>	9,0 <sup>a</sup>	19,0 <sup>a</sup>

Ghi chú: trong cùng một cột, các giá trị trung bình có ký tự theo sau khác nhau có sự khác biệt về mặt thống kê (p<0,05).

**Nghiên cứu khả năng trị bệnh đốm trắng trên cây thanh long của chủng vi nấm đối kháng *T. asperellum* T10 ở điều kiện nhà màng**

Tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh đốm trắng khi phun kết hợp với tưới gốc chủng *T. asperellum* T10 trên các cây thanh long đã được nhiễm bệnh nhân tạo trong nhà màng được thể hiện ở bảng 5.

**Bảng 5. Tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh khi sử dụng *T. asperellum* T10 để trị bệnh đốm trắng thanh long trong nhà màng.**

Công thức	Tỷ lệ bệnh (%)		
	10 ngày	20 ngày	30 ngày
CT1: nước lã	100,0 <sup>a</sup>	100,0 <sup>b</sup>	100,0 <sup>b</sup>
CT2: <i>T. asperellum</i> T10	92,0 <sup>a</sup>	80,0 <sup>a</sup>	72,0 <sup>a</sup>
Công thức	Chỉ số bệnh (%)		
	10 ngày	20 ngày	30 ngày
CT1: nước lã	44,0 <sup>a</sup>	56,0 <sup>b</sup>	59,0 <sup>b</sup>
CT2: <i>T. asperellum</i> T10	39,0 <sup>a</sup>	34,0 <sup>a</sup>	36,0 <sup>a</sup>

Ghi chú: trong cùng một cột, các giá trị trung bình có ký tự theo sau khác nhau có sự khác biệt về mặt thống kê (p<0,05).

Kết quả bảng 5 cho thấy, qua các thời điểm theo dõi tỷ lệ bệnh ở công thức đối chứng không có dấu hiệu giảm trong suốt 30 ngày (tỷ lệ bệnh 100%). Công thức xử lý *T. asperellum* T10 cho tỷ lệ bệnh giảm 28% có khác biệt thống kê so với đối chứng. Chỉ số bệnh của cây ở các nghiệm thức này sau 20 đến 30 ngày thử nghiệm cũng thấp hơn từ 22 đến 23% có khác biệt thống kê so với công thức đối chứng.

**Bàn luận**

Chủng *T. asperellum* T10 được phân lập từ đất vườn thanh long tại Bình Thuận, có khả năng thích nghi, định vị và tạo quần thể lớn xung quanh rễ thanh long, giúp phòng trừ lâu dài một số nấm bệnh khác gây hại thanh long [9]. Chủng *T. asperellum* T10 có khả năng cạnh tranh môi trường sống, sử dụng sinh khối nấm bệnh làm dinh dưỡng để tiếp tục phát triển và tiêu diệt nấm bệnh, tiết ra các hoạt chất kháng khuẩn giúp phòng trị bệnh đốm trắng trên cây thanh long từ bên ngoài lẫn bên trong, đặc biệt là tiêu diệt nấm bệnh ẩn náu trên cây thanh long ở vị trí mà thuốc bảo vệ thực vật không tiếp xúc được [8]. Chủng *T. asperellum* T10 có hiệu quả phòng trị bệnh đốm trắng ở điều kiện nhà màng, không ảnh hưởng xấu đến sự sinh trưởng cây thanh long thí nghiệm, *T. asperellum* T10 tiêu diệt trực tiếp và gián tiếp nấm bệnh trong đất và trên cây thanh long, giúp ức chế được sự phát triển và gây hại của nấm bệnh trên cây thanh long nên rất phù hợp cho việc tiếp tục nghiên cứu sản xuất chế phẩm vi sinh phòng trị bệnh đốm trắng trên cây thanh long.

Sau 4 ngày đối kháng, hiệu quả đối kháng *N. dimidiatum* của chủng *T. asperellum* T10 là 71,85%, cao hơn so với hiệu quả đối kháng *N. dimidiatum* của 5 chủng *Trichoderma* spp. do Nguyễn Như Nhút và cs (2019) [12] đã công bố là 59,94-63,02%; cao hơn so với hiệu quả đối kháng *N. dimidiatum* của 3 chủng *Trichoderma* HL135, FJ069 và 2325-2 do D. Chen và cs (2020) [13] đã công bố là 67,60±0,85%. Sau 4 ngày đối kháng, hiệu quả đối kháng *N. dimidiatum* của chủng *T. asperellum* T10 lại thấp hơn so với hiệu quả đối kháng *N. dimidiatum* của 3 chủng *Trichoderma* sp. do Trương Minh Tường và Trần Ngọc Hùng (2012) [5] đã công bố là 100%. Đường kính vòng vô khuẩn sau 4 ngày đối kháng *N. dimidiatum* của chủng *T. asperellum* T10 là 28,0 mm, thấp hơn so với đường kính vòng vô khuẩn sau 5 ngày đối kháng *N. dimidiatum* của chủng *Streptomyces griseorubens* (BCA3) là 48,01±2,07 mm do B.M.A. Hamad và cs (2021) [14] công bố. Nghiên cứu này đóng góp thêm về cơ sở ứng dụng chủng *T. Asperellum* T10 để phòng trị bệnh đốm trắng trên thanh long ngoài đồng ruộng, góp phần giảm thiểu việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật phòng trị

bệnh đốm trắng trên thanh long.

### Kết luận

Chủng *T. asperellum* T10 có hiệu quả đối kháng cao nhất với *N. dimidiatum*, với hiệu quả đối kháng là 100% sau 6 ngày và đường kính vòng vô khuẩn là 28 mm sau 4 ngày đối kháng.

Chủng *T. asperellum* T110 có khả năng phòng trị bệnh đốm trắng trên thanh long ở điều kiện nhà màng, giúp giảm tỷ lệ bệnh 28-40% và chỉ số bệnh 23-33% so với đối chứng.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Chi cục Bảo vệ Thực vật Bình Thuận (2020), *Cẩm nang hướng dẫn về phòng trừ sâu bệnh hại chính trên cây thanh long*.
- [2] Z. Wan, et al. (2017), "Identification of *Trichoderma harzianum* T3.13 and its interaction with *Neoscytalidium dimidiatum* U1, a pathogenic fungus isolated from dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia", *International Journal of Agriculture and Environmental Research*, **3(3)**, pp.3205-3228.
- [3] R.H. Yi, et al. (2015), "Fruit internal brown rot caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on pitahaya in Guangdong province China", *Australasian Plant Disease Notes*, **10(13)**, pp.1-4.
- [4] Trần Thị Thu Hà, Phạm Thanh Hòa (2012), "Khả năng đối kháng của nấm *Trichoderma* với nấm bệnh hại cây trồng *Sclerotium rolfsii* Sacc trong điều kiện *in vitro*", *Tạp chí Khoa học, Đại học Huế*, **75A(6)**, tr.49-55.
- [5] Trương Minh Tường, Trần Ngọc Hùng (2012), "Nghiên cứu khả năng phòng, trị một số bệnh ở thanh long bằng *Trichoderma*", *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Thủ Dầu Một*, **4(6)**, tr.21-28.
- [6] Nguyễn Đức Huy và cs (2017), "Phân lập và đánh giá khả năng đối kháng của *Trichoderma asperellum* đối với tác nhân gây bệnh cây có nguồn gốc trong đất", *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, **15(12)**, tr.1593-1604.
- [7] T.X. Vu, et al. (2021), "Potential of *Trichoderma asperellum* as a bio-control agent against citrus diseases caused by *Penicillium digitatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*", *International Journal of Agricultural Technology*, **17(5)**, pp.2005-2020.
- [8] S.M.N. Islam, et al. (2020), "Inhibitory effect of *Trichoderma asperellum* isolate against *Ralstonia solanacearum* causing Brinjal wilt", *Ann. Bangladesh Agric.*, **24(2)**, pp.107-120.
- [9] W.R. Méndez, et al. (2020), "*Trichoderma asperellum* biocontrol activity and induction of systemic defenses against *Sclerotium cepivorum* in onion plants under tropical climate conditions", *Biological Control*, **141**, pp.104-145.
- [10] M.H.E. Komy, et al. (2015), "Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato *Fusarium wilt*", *Plant Pathol. J.*, **31(1)**, pp.50-60.
- [11] Đỗ Thị Thanh Dung và cs (2018), "Khả năng đối kháng của vi khuẩn *Bacillus* sp. với vi nấm *Neoscytalidium dimidiatum* gây bệnh đốm trắng trên thanh long", *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh*, **15(12)**, tr.32-42.
- [12] Nguyễn Như Nhứt, Nguyễn Thị Ngọc Bích, Nguyễn Thanh Trường, Võ Thị Xuyên (2019), "Phân lập nấm bệnh *Neoscytalidium dimidiatum* trên cây thanh long và nghiên cứu kiểm soát bằng vi sinh vật", *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ (Khoa học tự nhiên), Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh*, **3(4)**, tr.286-293.
- [13] D. Chen, et al. (2020), "Antagonistic effects of seven *Trichoderma* strains on three pathogens of Pitaya", *Chinese Journal of Tropical Crops*, **41(12)**, pp.2501-2506.
- [14] B.M.A. Hamad, et al. (2021), "Effectiveness of augmentative biological control of *Streptomyces griseorubens* UAE2 depends on 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity against *Neoscytalidium dimidiatum*", *J. Fungi*, **(7)**, DOI: 10.3390/jof7110885.