

Keberkesanan *Trichoderma* sp. dalam mengawal penyakit kanker batang durian

(*Efficacy of Trichoderma sp. in controlling stem canker disease of durian*)

Suhanna Ahmad, Nor Dalila Nor Danial, Md Nurul Khalid Koyube, Nur Azlin Razali dan Haryati Mansor

Kata kunci: durian, kanker batang, in vitro, in vivo, *Trichoderma*

Pengenalan

Durian (*Durio zibethinus* Murr.) merupakan salah satu buah bermusim yang paling terkenal dan banyak ditanam di Asia Tenggara serta dikenali sebagai Raja Buah Tropika. Pada tahun 2020, Malaysia menghasilkan sebanyak 390,635 tan metrik durian. Varieti Musang King ditanam sebanyak 40% daripada 76,895 hektar tanah yang ditanam dengan pokok durian. Namun seperti tanaman lain, durian juga terdedah kepada serangan patogen kulat. Salah satu masalah utama yang mengancam industri durian pada masa kini adalah penyakit kanker batang yang disebabkan oleh *Phytophthora palmivora* dan merupakan salah satu penyakit utama pada tanaman durian. *P. palmivora* ialah patogen bawaan tanah semula jadi yang mampu menjangkiti semua bahagian pokok durian pada semua peringkat pertumbuhan. Jangkitan ini boleh menyebabkan kehilangan hasil sehingga 50% di ladang. Kawalan kimia masih menjadi kaedah yang paling biasa digunakan untuk mengawal penyakit ini. Penggunaan bahan kimia dalam kawalan penyakit tumbuhan boleh memberikan kesan yang berkesan, tetapi merupakan penyelesaian jangka pendek dan pengumpulan residu kimia berbahaya yang kadangkala boleh menyebabkan masalah ekologi yang serius. Oleh itu, kaedah alternatif untuk kawalan penyakit perlu dibangunkan. Pelbagai langkah dan strategi seperti Pengurusan Perosak Bersepadu (IPM) dan pertanian organik telah dilaksanakan. Namun, pilihan bahan kawalan untuk pengurusan penyakit di dalam ladang organik adalah terhad.

Kawalan biologi merupakan salah satu pilihan di mana mikroorganisma hidup dipilih berdasarkan keupayaannya untuk mengawal populasi patogen. Selain itu, kaedah biologi juga lebih menjimatkan, berkesan dalam jangka panjang dan tidak meninggalkan kesan sampingan residu. Matlamat utama kawalan biologi penyakit tumbuhan adalah mengurangkan inokulum patogen sasaran ke tahap yang tidak menyebabkan kerugian ekonomi yang ketara pada tanaman. Kulat *Trichoderma* semakin mendapat perhatian sebagai agen perlindungan biologi terhadap penyakit tumbuhan. Ia mudah diperoleh, boleh dikultur dengan mudah, tumbuh dengan cepat pada pelbagai substrat, memberi kesan kepada pelbagai patogen tumbuhan yang bersaing untuk nutrien dan ruang, menghasilkan antibiotik, serta mempunyai sistem enzim yang mampu menyerang pelbagai patogen tumbuhan. Oleh itu, tujuan kajian ini adalah untuk menilai

keberkesanan beberapa spesies kulat *Trichoderma* terhadap penyakit kanker batang durian supaya dapat digunakan sebagai agen kawalan biologi pada masa hadapan.

Kultur patogen dan strain antagonis

Kulat *Trichoderma* spp. dikultur pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA). Plat PDA diinkubasi pada suhu bilik selama 5 – 7 hari untuk eksperimen seterusnya. Patogen penyebab kanker batang *P. palmivora*, dipencilkan daripada pokok durian yang menunjukkan simptom berpenyakit. Bahagian tisu yang tidak sihat dicuci dan direndam selama 1 minit dalam etanol 70%, dicuci semula dengan air suling yang telah disteril dan dipindahkan ke medium *Carrot Agar* (CA). Miselium yang tumbuh daripada tisu tersebut disubkultur dan agar berdiameter 5 mm dipindahkan ke plat baharu untuk mendapatkan kultur patogen yang tulen. Sebanyak 14 pencilan *Trichoderma* sp. digunakan dalam uji kaji ini seperti dalam *Jadual 1*.

Jadual 1. Sebanyak 14 pencilan *Trichoderma* sp. digunakan dalam uji kaji ini

Label	Pencilan <i>Trichoderma</i> sp.
TR1	<i>Trichoderma asperellum</i>
TR2	<i>Trichoderma asperellum</i>
TR4	<i>Trichoderma harzianum</i>
TR5	<i>Trichoderma harzianum</i>
TR6	<i>Trichoderma virens</i>
TR7	<i>Trichoderma harzianum</i>
TR8	<i>Trichoderma reseei</i>
TR9	<i>Trichoderma virens</i>
TR10	<i>Trichoderma harzianum</i>
TR12	<i>Trichoderma harzianum</i>
TR13	<i>Trichoderma asperellum</i>
TR14	<i>Trichoderma virens</i>
TR15	<i>Trichoderma asperellum</i>
TR16	<i>Trichoderma harzianum</i>

Aktiviti antikulat secara in vitro

Uji kaji kultur dua hala

Miselium yang diperoleh daripada kultur *P. palmivora* berusia 10 hari diletakkan pada jarak 1.5 cm dari pusat plat CA, manakala miselium *Trichoderma* spp. diletakkan 3 cm daripada miselium *P. palmivora*. Patogen digunakan sebagai kawalan tanpa kehadiran *Trichoderma* pada plat CA. Semua ujian kultur dua hala disediakan dalam tiga replikasi dan diinkubasi pada suhu 28 °C selama sembilan hari dalam ruang gelap. Hasil ujian digunakan untuk menentukan tindak

balas patogen terhadap *Trichoderma* spp. Pencilan *Trichoderma* yang menunjukkan peratusan perencatan tertinggi dalam ujian kultur dua hala akan dipilih untuk kajian seterusnya. Keupayaan *Trichoderma* spp. dalam menghalang pertumbuhan *P. palmivora* dalam ujian kultur dua (2_ hala diukur menggunakan formula peratusan perencatan pertumbuhan jejari (PIRG) seperti yang dicadangkan oleh Jinantana et al. (1998):

$$\% \text{ PIRG} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

Di mana:

R1 = Pertumbuhan jejari *Trichoderma* tanpa kehadiran antagonis

R2 = Pertumbuhan jejari *Trichoderma* dengan kehadiran antagonis

Uji kaji bioassay untuk sebatian meruap menggunakan kaedah dua lapisan (bilayer)

Untuk menilai kesan sebatian meruap yang dihasilkan oleh *Trichoderma* spp. terhadap *P. palmivora*, kaedah dua lapisan (*bilayer method*) digunakan. Medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) dituangkan ke dalam dua plat berasingan. Dalam plat pertama, miselium *Trichoderma* spp. (berdiameter 5 mm) daripada kultur berusia tujuh hari diletakkan di tengah medium PDA. Dalam plat kedua, miselium *P. palmivora* (berdiameter 5 mm) daripada kultur berusia 10 hari diletakkan di tengah medium PDA. Kedua-dua plat kemudian disusun secara berlapis dengan bahagian medium saling berhadapan, tetapi tanpa sentuhan fizikal antara miselium. Bahagian tepi plat ditutup dengan parafilm untuk mengelakkan kehilangan sebatian meruap. Plat diinkubasi pada suhu 28 °C selama 7 – 10 hari dalam keadaan gelap. Selepas tempoh inkubasi, pertumbuhan miselium *P. palmivora* diukur dan dibandingkan dengan kawalan (plat tanpa kehadiran kulat *Trichoderma*). Peratusan perencatan pertumbuhan dikira menggunakan formula yang sama seperti kajian dua hala.

Kajian in vivo: penilaian aktiviti kawalan biologi antagonis

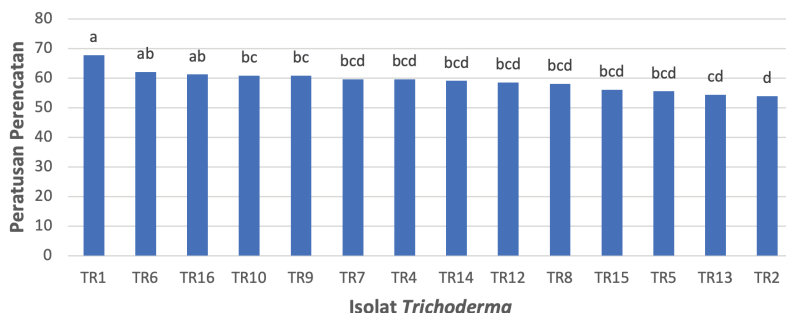
Batang anak pokok durian berusia enam bulan diinokulasi dengan *P. palmivora* bagi mencetuskan jangkitan, satu hari selepas semua rawatan dengan 14 jenis *Trichoderma* disebarkan. Suspensi *Trichoderma* pada kepekatan 10^8 CFU disediakan dengan menggunakan kaedah pencairan bersiri sebelum penyemburan pada anak pokok durian. Inokulasi patogen dilakukan dengan menebuk batang pada kedalaman 2 mm menggunakan alat pemotong gabus steril. Plug daripada kultur *P. palmivora* pada medium *Carrot Agar* (CA) dimasukkan ke dalam luka pada batang yang sihat, kemudian ditutup dengan kapas lembap dan dibalut menggunakan parafilm. Perkembangan penyakit dipantau setiap minggu dan diameter luka diukur menggunakan kaliper digital selepas 30 hari inokulasi. Air suling yang telah disteril digunakan sebagai kawalan.

Dapatan kajian

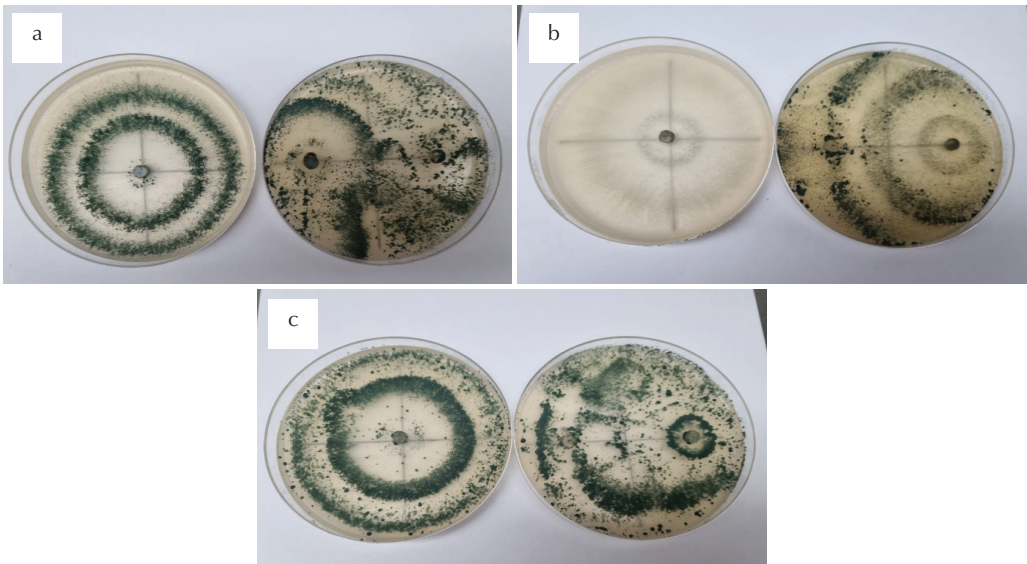
Kebanyakan *Trichoderma* spp. berkembang dengan pesat dalam ujian kultur dua hala dan menunjukkan keupayaan perencatan yang ketara dengan kecekapan yang berbeza-beza seperti dalam *Rajah 1*. TR1 menunjukkan kesan paling besar terhadap pertumbuhan *P. palmivora*, mengurangkannya sebanyak 67.65% dan menutupi keseluruhan koloni selepas tujuh hari (*Rajah 1* dan *Gambar 1*). Ia tumbuh lebih cepat daripada patogen dalam ujian kultur dua hala, memberikan kelebihan yang ketara dalam persaingan untuk nutrien dan ruang. Pencilan *Trichoderma* TR1 juga menghasilkan sebatian meruap yang menghalang pertumbuhan miselium *P. palmivora* sehingga 82.74% (*Jadual 2*). Penggunaan *Trichoderma asperellum* sebagai agen antagonis dalam ujian kultur dua hala menunjukkan kesan yang signifikan dalam mengurangkan pertumbuhan miselium *P. capsici*. Pengurangan ini berlaku apabila miselium patogen mengalami keruntuhan struktur dan terpecah kepada serpihan, menandakan potensi tinggi *T. asperellum* sebagai agen biokawalan.

Terdapat kajian yang melaporkan bahawa *Trichoderma* spp. mampu menghalang pertumbuhan pelbagai spesies *Phytophthora* melalui ujian kultur dua hala, sekali gus membuktikan keberkesanan sifat antagonistik *Trichoderma* spp. terhadap *P. palmivora*. Selaras dengan penemuan tersebut, dalam kajian ini *Trichoderma* spp. menunjukkan kesan perencatan terhadap *P. palmivora*, patogen yang menyebabkan penyakit kanker batang pada tanaman durian. Tiga pencilan *Trichoderma* yang berpotensi iaitu TR1, TR6 dan TR16 telah dinilai lanjut bagi menilai keberkesanannya dalam mengurangkan keterukan luka akibat jangkitan kanker batang dalam kondisi rumah hijau.

Semua antagonis yang menunjukkan kesan perencatan terbesar terhadap *P. palmivora* secara in vitro telah digunakan dalam eksperimen in vivo. *Trichoderma asperellum* (TR1), *T. virens* (TR6) dan *T. harzianum* (TR16) diuji secara in vivo untuk menilai keupayaan mereka mengurangkan keterukan lesi pada batang durian yang diinokulasi dengan *P. palmivora*. *T. virens* (TR6) menunjukkan tahap pengurangan penyakit kanker batang yang memberangsangkan dengan menghasilkan lesi yang paling kecil berbanding rawatan lain dengan



Rajah 1. Peratusan perencatan pertumbuhan jejari (PIRG) P. palmivora dengan kehadiran 14 pencilan Trichoderma melalui ujian kultur dua hala (in vitro) pada hari keenam



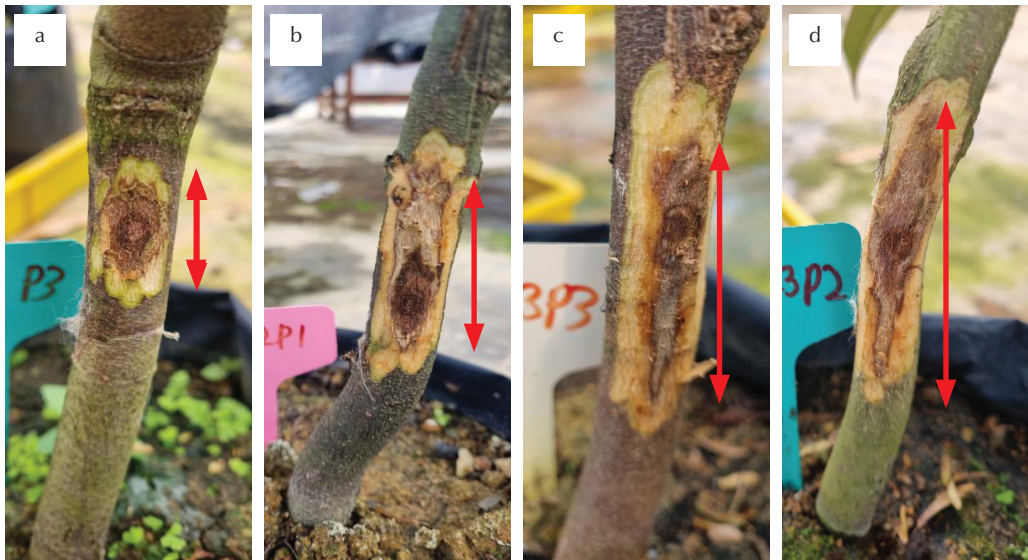
Gambar 1. Antagonisma *Trichoderma* spp. terhadap *P. palmivora*. Koloni *P. palmivora* dimusnahkan sepenuhnya oleh *Trichoderma* spp. selepas 7 hari. (a) = TR1, (b) = TR6 dan (c) = TR16

Jadual 2. Peratusan perencatan pertumbuhan jejari (PIRG) *P. palmivora* oleh sebatian meruap yang dihasilkan oleh 14 pencilan *Trichoderma* spp. pada hari keenam

Pencilan <i>Trichoderma</i> sp.	Peratusan perencatan (%)
TR1	82.74 ^a
TR2	78.23 ^{abc}
TR4	67.45 ^{abcd}
TR5	64.31 ^{abcd}
TR6	76.67 ^{abc}
TR7	65.69 ^{abcd}
TR8	58.43 ^{cd}
TR9	53.73 ^d
TR10	61.96 ^{bcd}
TR12	62.75 ^{abcd}
TR13	80.79 ^{ab}
TR14	62.16 ^{bcd}
TR15	69.61 ^{abcd}
TR16	81.57 ^{ab}

*Min dengan huruf berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan pada $p < 0.05$ menggunakan ujian LSD

purata diameter luka yang signifikan berbeza (18.10 mm) berbanding dengan kawalan tanpa rawatan (Gambar 2). Sebaliknya, *T. asperellum* dan *T. harzianum* didapati kurang berkesan dengan diameter luka masing-masing 23.83 mm dan 34.87 mm (Jadual 3).



Gambar 2. Kesan *Trichoderma* terhadap diameter lesi yang disebabkan oleh *P. palmivora*. TR6 menghasilkan lesi yang lebih kecil berbanding dengan rawatan lain selepas satu bulan inokulasi patogen. (a) = TR6, (b) = TR1, (c) = TR16 dan (d) = Kawalan tanpa rawatan

Jadual 3. Kesan tiga penciran *Trichoderma* terhadap batang anak pokok durian berdasarkan perkembangan lesi penyakit (mm)

Rawatan	Diameter lesi penyakit (mm)
<i>T. asperellum</i> (TR1)	23.83 ^{ab*}
<i>T. virens</i> (TR6)	18.10 ^a
<i>T. harzianum</i> (TR16)	34.87 ^{ab}
Kawalan tanpa antagonis	39.60 ^b

Diameter perkembangan mewakili min daripada tiga replikasi (tiga pokok/replikasi).
 *Min dengan huruf berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan pada $p < 0.05$

Kesimpulan

T. virens (TR6) menunjukkan potensi sebagai agen kawalan biologi untuk mengurangkan penyakit kanker pada durian. Penggunaan produk berasaskan *Trichoderma* dalam usaha mengawal patogen tumbuhan adalah kaedah yang selamat untuk petani dan juga mesra alam. Kajian lanjut melibatkan pembangunan formulasi yang stabil, kos efektif, mudah dihasilkan dan diaplikasi serta tahan lama sewaktu penyimpanan sedang dilaksanakan bagi memastikan industri tanaman durian dapat berkembang maju dengan pengurangan jangkitan penyakit utama iaitu *P. palmivora*.

Penghargaan

Projek ini dilaksanakan bawah biayaan Dana RMK-12 (Sistem Pengeluaran Sayur-sayuran dan Buah-buahan Tempatan secara Organik yang Inovatif bagi Peningkatan Bekalan Makanan Organik di Dalam Negara – P21400010170506). Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua ahli projek yang terlibat secara langsung atau tidak dalam pelaksanaan projek ini.

Bibliografi

- Berger, G., Czarnocka, K., Cochard, B., Oszako, T., & Lefort, F. (2015). Biocontrol endotherapy with *Trichoderma* spp. and *Bacillus amyloliquefaciens* against *Phytophthora* spp: A comparative study with phosphite treatment on *Quercus robur* and *Fagus sylvatica*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, A, 5 (2015), 428–439.
- Jiang, H., Zhang, L., Zhang, J. Z., Ojaghian, M. R., & Hyde, K. D. (2016). Antagonistic interaction between *Trichoderma asperellum* and *Phytophthora capsici* in vitro. *Journal of Zhejiang University Science*, 17(4), 271–281.
- Jinantana, J., & Sariah, M. (1998). Potential for biocontrol of Sclerotium foot rot of chilli by *Trichoderma* spp. *Pertanika*, 21, 1–10.
- Kumar, G., Maharshi, A., Patel, J., Mukherjee, A., Singh, H. B., & Sarma, B. K. (2017) *Trichoderma*: A Potential Fungal Antagonist to Control Plant Diseases. *SATSA Mukhapatra – Annual Technical Issue*, m.s. 206–218.
- Rahman, S. F., Singh, E., Pieterse, C. M. J., & Schenk, P. M. (2018). Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Sci.*, 267, 102–111.
- Ty'skiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., & Jaroszuk-Scisiel, J. (2022). *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *Int. J. Mol. Sci.*, 23, 2329.

Ringkasan

Kanker batang yang disebabkan oleh *Phytophthora palmivora* merupakan penyakit utama yang menjejaskan tanaman durian. Kajian ini bertujuan untuk menilai aktiviti antagonistik *Trichoderma* spp. terhadap *P. palmivora* melalui ujian in vitro dan in vivo. Disebabkan mekanisme kawalan biologinya yang telah terbukti berkesan, *Trichoderma* spp. telah digunakan secara meluas dalam bidang pertanian. Sebanyak 14 pencilan *Trichoderma* spp. telah diuji bagi menilai keupayaan antagonistik terhadap *P. palmivora*. Hasil kajian menunjukkan perencatan yang signifikan dengan kadar perencatan radial antara 53.92% – 67.65% dalam ujian kultur dua hala pada hari keenam, serta pertumbuhan sepenuhnya ke atas koloni patogen pada hari ketujuh. Selain itu, sebatian meruap yang dihasilkan oleh pencilan *Trichoderma* dapat menghalang pertumbuhan *P. palmivora* sehingga 82.74%. Antara pencilan yang diuji, *T. asperellum* (T1), *T. virens* (T6) dan *T. harzianum* (T16) menunjukkan kesan perencatan tertinggi in vitro dan seterusnya dipilih untuk ujian in vivo. Apabila digunakan pada anak benih durian 24 jam sebelum inokulasi patogen, pencilan tersebut mengurangkan keterukan lesi dengan ketara selepas 30 hari, di mana *T. virens* (T6) paling berkesan berbanding kawalan tanpa rawatan. Dapatan ini menunjukkan bahawa *Trichoderma* spp. mampu memperlahankan penyebaran kulat *P. palmivora* dalam tumbuhan melalui

mekanisme antifungal sinergistik. Penggunaan *Trichoderma* spp. sebagai agen kawalan biologi adalah selari dengan prinsip pengurusan tanaman secara organik kerana mengurangkan kebergantungan kepada racun kulat sintetik, meminimumkan kesan negatif terhadap alam sekitar dan memperkayakan biodiversiti mikrob tanah. Aplikasinya secara pencegahan boleh disyorkan sebagai strategi mampan dan mesra alam bagi mengawal penyakit kanker batang dalam penanaman durian.

Summary

Stem canker caused by *Phytophthora palmivora* is a major disease affecting durian plantations. This study aimed to evaluate the antagonistic activity of *Trichoderma* spp against *P. palmivora* through both *in vitro* and *in vivo* experiments. Due to its well-known biological control mechanism, *Trichoderma* spp. has been widely utilised in agriculture. Fourteen isolates of *Trichoderma* spp. were tested for their antagonistic activity against *P. palmivora*. The results demonstrated significant inhibition, with radial suppression ranging from 53.92% – 67.65% in dual culture tests by day six and complete pathogen overgrowth by day seven. Additionally, volatile compounds produced by *Trichoderma* isolates inhibited *P. palmivora* by up to 82.74%. Among the tested isolates, *T. asperellum* (T1), *T. virens* (T6) and *T. harzianum* (T16) exhibited the highest inhibitory effects *in vitro* and were selected for *in vivo* trials. When applied to durian seedlings 24 hours before pathogen inoculation, these isolates significantly reduced lesion severity after 30 days, with *T. virens* (T6) being the most effective compared to the untreated control. These findings suggest that *Trichoderma* spp. can slow the *in-planta* invasion of *P. palmivora* through synergistic antifungal mechanisms. The use of *Trichoderma* spp. as a biological control agent aligns with organic management principles, as it reduces dependence on synthetic fungicides, minimises environmental impact and enhances soil microbial diversity. Its preventive application could be recommended as a sustainable and eco-friendly strategy for managing stem canker disease in durian cultivation.

Pengarang

Suhanna Ahmad

Pusat Penyelidikan Hortikultur, Ibu Pejabat MARDI,
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor
E-mel: suhanna@mardi.gov.my

Md Nurul Khalid Koyube dan Nur Azlin Razali
Pusat Penyelidikan Hortikultur, Ibu Pejabat MARDI,
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Nor Dalila Nor Danial
Pusat Penyelidikan Hortikultur, MARDI Sintok,
06050 Bukit Kayu Hitam, Kedah

Haryati Mansor (Ts. Chm.)
Pusat Penyelidikan Sains Tanah, Air dan Baja, Ibu Pejabat MARDI,
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor