

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG KHÁNG NẤM *Phytophthora* sp. CỦA DỊCH CHIẾT CÂY CỎ HÔI (*Ageratum conyzoides*)

Nguyễn Bá Khánh Trình*, Trần Thị Thu Phương, Nguyễn Đình Thảo Ngân, Nguyễn Thị Như Quỳnh

Viện Sinh học nhiệt đới - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Ageratum conyzoides L. (*A. conyzoides*) hay còn gọi là cây cỏ hôi, là loài cỏ dại phân bố khắp mọi nơi có sự phát triển mạnh mẽ và kháng nấm bệnh cao. Một số nghiên cứu cho thấy flavonoid là hoạt chất chính có tác dụng ức chế đối với nấm *Phytophthora*. Do đó, nghiên cứu này nhằm khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến khả năng tách chiết hoạt chất flavonoid khi sử dụng hai loại dung môi ethanol và methanol ở các nồng độ khác nhau (30%, 50%, 70% và 90%) bằng phương pháp đo quang phổ UV-Vis. Kết quả cho thấy hàm lượng flavonoid trích được từ dịch chiết ethanol 90% ($15,609 \pm 0,139$ mg/mL) và methanol 70% ($10,135 \pm 0,185$ mg/mL) đạt cao nhất. Qua đó, đánh giá khả năng kháng nấm *Phytophthora* sp. bằng phương pháp đo khả năng ức chế đường kính tán nấm trên thạch đĩa trong 168 giờ sau khi cấy ở các nồng độ dịch chiết được khảo sát là 0%, 1%, 2%, 4%, 8%. Kết quả cho thấy ethanol 90% là nồng độ dung môi thích hợp để tách chiết hoạt chất kháng nấm với nồng độ dịch chiết là 8%. Ngoài ra, khi phân tích ANOVA hai yếu tố cho thấy có sự tương tác giữa giữa nồng độ dung môi và nồng độ dịch chiết lên sự phát triển của *Phytophthora* sp.. Do đó, cây cỏ hôi (*A. conyzoides*) có tiềm năng có thể ứng dụng trong kiểm soát một số loại nấm gây hại trên cây trồng định hướng làm thuốc bảo vệ thực vật có nguồn gốc sinh học.

Từ khóa: *Ageratum conyzoides*, cây cỏ hôi, dịch chiết ethanol và methanol, *Phytophthora*, kháng nấm.

MỞ ĐẦU

Cây hồ tiêu (*Piper nigrum*) là một trong những mặt hàng xuất khẩu quan trọng của Việt Nam, đóng góp lớn vào nền kinh tế nông nghiệp của nước ta. Tuy nhiên, cây hồ tiêu đang phải đối mặt với nhiều loại bệnh hại, trong đó có bệnh thối gốc/ chết nhanh do nấm *Phytophthora* sp. gây ra. Bệnh này gây ra những thiệt hại nghiêm trọng về năng suất và chất lượng cây trồng, ảnh hưởng tiêu cực đến thu nhập của người nông dân (Islam *et al.*, 2005). Hiện nay thuốc hóa học đã và đang được xem là phương pháp hiệu quả nhất trong việc phòng trừ các bệnh về nấm trên cây trồng do dễ áp dụng, hiệu quả nhanh và giá thành rẻ. Tuy nhiên nếu sử dụng trong thời gian dài sẽ làm tăng tính kháng thuốc, dư lượng thuốc trên nông sản và tồn dư trong đất ảnh hưởng nghiêm trọng tới sức khỏe con người (Nicolopoulou-Stamati *et al.*, 2016). Việc kiểm soát nấm *Phytophthora* sp. trên hồ tiêu vô cùng phức tạp và là một thách thức lớn. Vì vậy, cần tìm ra một phương pháp phòng trừ dịch hại mới thân thiện với môi trường là các biện pháp có nguồn gốc hữu cơ phổ biến là hoạt chất thứ cấp chiết xuất có nguồn gốc thực vật, vì sinh vật,... Trên thế giới hiện nay đang có xu hướng nghiên cứu và sử dụng các hợp chất thiên nhiên có nguồn gốc từ thực vật, có tính kháng vi sinh vật gây bệnh và đặc biệt có độ an toàn cao, từ đó tạo ra các chế phẩm sinh học có khả năng phòng trừ các loại dịch hại trên cây trồng.

Trong số các loài thực vật có tiềm năng, cây cỏ hôi (*Ageratum conyzoides* L.) được biết đến với khả năng phát triển mạnh mẽ và chứa nhiều nhóm hoạt chất có hoạt tính sinh học như flavonoids, polyphenols, và alkaloids (Chahal *et al.*, 2021). Đặc biệt, các flavonoids đã được chứng minh có khả năng kháng lại nấm *Phytophthora* sp. (Del Río *et al.*, 2004), một trong những nguyên nhân chính gây ra bệnh thối rễ ở hồ tiêu. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã khẳng định rằng các hoạt chất này có khả năng kháng nấm, kháng khuẩn và chống oxy hóa mạnh mẽ, mở ra triển vọng mới cho việc sử dụng chiết xuất từ cây cỏ hôi trong phòng trừ bệnh thối rễ ở cây hồ tiêu một cách hiệu quả và an toàn (Louise *et al.*, 2011; Báidez *et al.*, 2006). Tại Việt Nam, chưa có nghiên cứu nào về hoạt tính kháng nấm *Phytophthora* sp. từ chiết xuất cây cỏ hôi. Vì thế, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khám phá tiềm năng kháng nấm của cây cỏ hôi và đánh giá khả năng ứng dụng của nó trong việc phòng trừ bệnh thối rễ ở cây hồ tiêu. Nghiên cứu này không chỉ mở ra một hướng đi mới trong việc phòng trừ bệnh thối rễ cho cây hồ tiêu mà còn góp phần vào việc bảo vệ môi trường và sức khỏe cộng đồng, là một bước tiến quan trọng trong việc tìm kiếm các giải pháp nông nghiệp bền vững và thân thiện với môi trường.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Cây Cỏ hôi (*Ageratum conyzoides* Linnaeus, 1753) trưởng thành được thu hái ở Lâm Đồng. Cây sau khi thu nhận được đưa về phòng thí nghiệm, rửa sạch và phơi khô, sau đó mang đi cắt nhỏ, xay nhuyễn bằng máy xay sinh tố, bảo quản bột trong hộp kín ở nhiệt độ phòng.

Nấm *Phytophthora* sp. được cung cấp bởi phòng Công nghệ biến đổi sinh học, Viện Sinh học nhiệt đới. Nấm được phân lập từ hồ tiêu bị bệnh và nuôi cấy trên môi trường PDA và môi trường khảo sát là PDA có bổ sung các loại dịch chiết ethanol và methanol.

Hóa chất: Methanol, AlCl₃, CH₃COOK, Dimethyl sulfoxide (DMSO), quercetin (Merck).

Thiết bị và dụng cụ: Cân phân tích độ chính xác 0,0001 g, bể siêu âm Elma (Đức), thiết bị cô quay chân không, máy đo quang phổ UV – Vis, falcon, bình erlen, micropipette, ống nghiệm, máy đo pH,...

Phương pháp

Phương pháp tách chiết bằng dung môi ethanol và methanol

Cân 50 g bột cây cỏ hôi, chiết siêu âm với dung môi ethanol/methanol ở 4 nồng độ 30%, 50%, 70%, 90% (tỷ lệ dung môi: dược liệu = 5:1) trong 3 giờ, ngâm trong 24 giờ. Lọc thu dịch chiết và bã cây tiếp tục ngâm chiết với dung môi theo tỉ lệ 3:1, ngâm trong 24 giờ, tiếp tục lặp lại thêm ba lần nhằm thu hết lượng hoạt chất có trong cây. Sau khi hoàn thành ngâm chiết, dịch chiết được loại bỏ dung môi bằng thiết bị cô quay chân không. Đối với dung môi ethanol (E30, E50, E70, E90) làm bay hơi dung môi với áp suất 70 – 130 mBar, 90 rpm ở nhiệt độ 60°C (Wuyep et al., 2017). Đối với dung môi methanol (M30, M50, M70, M90) làm bay hơi dung môi với áp suất 70 – 130 mBar, 90 rpm ở nhiệt độ 45°C (Yuliani and Rahayu Yuni, 2021). Thu dịch chiết cô đặc và bảo quản trong falcon ở 4°C sử dụng cho các thí nghiệm sau.

Phân tích hàm flavonoid tổng số trong các chiết xuất

Nấm *Phytophthora* sp. có thể bị ức chế sự phát sinh bào tử trong đất nhờ hoạt chất 5'-methoxynobiletin và 5,6,7,3',4',5'-hexamethoxyflavone thuộc nhóm flavon có trong cây cỏ hôi (Kong et al., 2004).

Hàm lượng flavonoid tổng số được xác định theo phương pháp tạo màu với AlCl₃ (Chang et al., 2002), bằng cách xây dựng đường chuẩn với quercetin (QE). Cho vào ống nghiệm 0,5 mL dung dịch quercetin ở các nồng độ khác nhau 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1 mg/mL và bổ sung 1,5 mL methanol 99,5% và chờ trong 5 phút. Sau đó, thêm tiếp 0,1 mL AlCl₃ 10% và để phản ứng trong 6 phút. Cuối cùng, hỗn hợp được thêm vào 0,1 mL CH₃COOK 1M và 2,8 mL nước cất, lắc đều rồi để ổn định ở nhiệt độ phòng trong 45 phút. Tiến hành song song cùng mẫu đối chứng, với mẫu đối chứng là DMSO 100%. Sau 45 phút, tiến hành đo độ hấp thụ của mẫu đối chứng và mẫu chuẩn bằng máy đo quang phổ UV-Vis ở bước sóng 430 nm. Giá trị OD được ghi nhận và tiến hành vẽ đường thẳng hiệu chuẩn để sử dụng xác định hàm lượng flavonoid tổng số trong các mẫu dịch trích. Thực hiện tiến trình thí nghiệm tương tự đối với các mẫu dịch chiết như với quercetin chuẩn. Tính toán kết quả: Dựa vào phương trình hồi quy giữa nồng độ dung dịch quercetin ($y=0,0029x - 0,0152$; $R^2 = 0,9937$) và độ hấp thụ quang, xác định nồng độ của flavonoid tổng số trong mẫu dịch chiết (mg/mL).

Phương pháp xác định khả năng ức chế đường kính tản nấm *Phytophthora* sp.

Dựa trên khả năng ức chế sự phát triển đường kính tản nấm (ĐKTN) của các loại dịch chiết ở nồng độ khác nhau qua đó đánh giá được khả năng ức chế sinh trưởng và phát triển của nấm. Các loại dịch chiết ethanol và methanol (30%, 50%, 70%, 90%) được bổ sung vào môi trường PDA theo dãy nồng độ (0%, 1%, 2%, 4%, 8%), thí nghiệm được lặp lại 3 lần cho mỗi loại dịch chiết khác nhau. Đĩa sau khi cấy được ủ ở nhiệt độ 28°C. Quan sát hình thái và đo ĐKTN sau 168 giờ cấy. Hiệu lực ức chế (HLUC) được tính theo công thức (Al-Hetar et al., 2010):

$$HLUC (\%) = \frac{\text{ĐKTN ở công thức đối chứng} - \text{ĐKTN ở công thức thí nghiệm}}{\text{ĐKTN ở công thức đối chứng}} \times 100$$

Phương pháp xử lý thống kê

Các số liệu thí nghiệm được nhập và xử lý sơ bộ, tính các giá trị trung bình và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Excel, phân tích ANOVA bằng phần mềm Minitab, các giá trị trung bình được kiểm định bằng phép thử Tukey ở mức ý nghĩa 95%.

KẾT QUẢ

Hàm lượng flavonoids tổng số trong các chiết xuất

Bảng 1. Ảnh hưởng của hệ dung môi đến khả năng tách chiết flavonoids trong cây cỏ hôi.

Dung môi	Flavonoid (mg QE/mL)
M30	4,254 ± 0,273 ^d
M50	2,984 ± 0,027 ^e
M70	10,135 ± 0,185 ^b
M90	8,358 ± 0,204 ^c

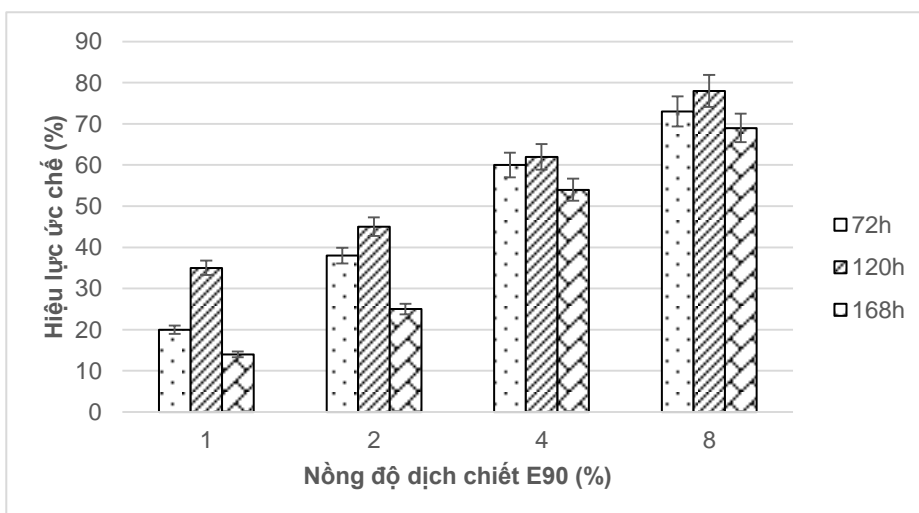
E30	4,879 ± 0,137 ^d
E50	8,259 ± 0,199 ^c
E70	9,527 ± 0,459 ^b
E90	15,609 ± 0,139 ^a

Kết quả khảo sát cho thấy, ở hàm lượng flavonoid cao nhất là ở E90 (15,609 mg/mL), tiếp theo là M70 (10,135 mg/mL) và E70 (9,527 mg/mL) (Bảng 1). Nghiên cứu của nhóm tác giả Yuliani and Rahayu Yuni (2021) đã phân tích hàm lượng flavonoid tổng số trong *A. conyzoides* ở vùng cao ($3,2 \pm 0,06$ mg/mL) cao hơn *A. conyzoides* mọc ở vùng đồng bằng ($2,9 \pm 0,0$ mg/mL) và ở vùng đất thấp ($2,6 \pm 0,06$ mg/mL). Điều này cho thấy phương pháp chiết xuất ảnh hưởng đến nồng độ hợp chất hóa học trong chiết xuất. Tổng hàm lượng flavonoid trong *A. conyzoides* không chỉ bị ảnh hưởng bởi phương pháp, dung môi, nhiệt độ, thời gian chiết xuất mà còn bị ảnh hưởng bởi loại địa hình nơi cây sinh sống.

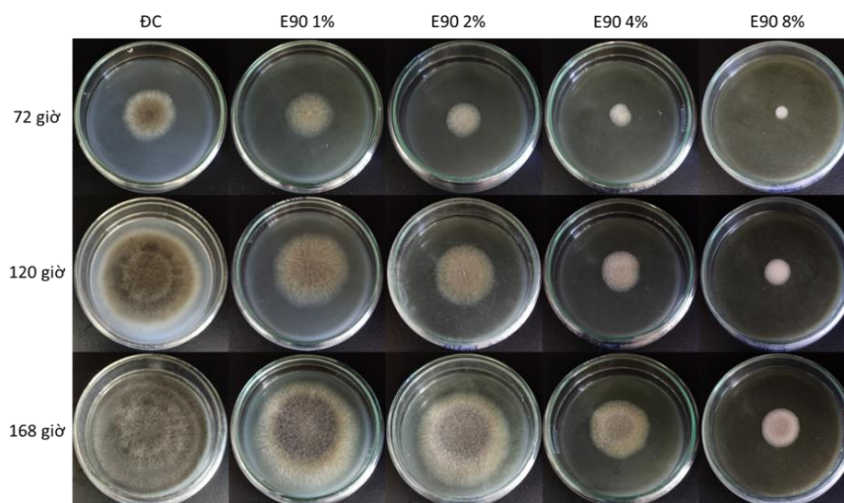
Kết luận rằng, trong nghiên cứu này ethanol 90% và methanol 70% là dung môi thích hợp nhất để thực hiện quá trình tách chiết flavonoid toàn phần từ cây cỏ hôi và do đó, chiết xuất E90 và M70 được lựa chọn trong thí nghiệm khảo sát khả năng kháng nấm *Phytophthora* sp.

Ảnh hưởng của nồng độ chiết xuất E90 đối với khả năng kháng nấm *Phytophthora* sp.

Kết quả đo ĐKTN *Phytophthora* sp. trên môi trường PDA có bổ sung dịch chiết E90 tại thời điểm 72, 120, 168 giờ. Qua đó, tính hiệu lực ức chế (HLUC), kết quả thí nghiệm ở Hình 1.



Hình 1. Hiệu lực ức chế ĐKTN *Phytophthora* sp. của dịch chiết E90 ở các nồng độ theo thời gian (%)

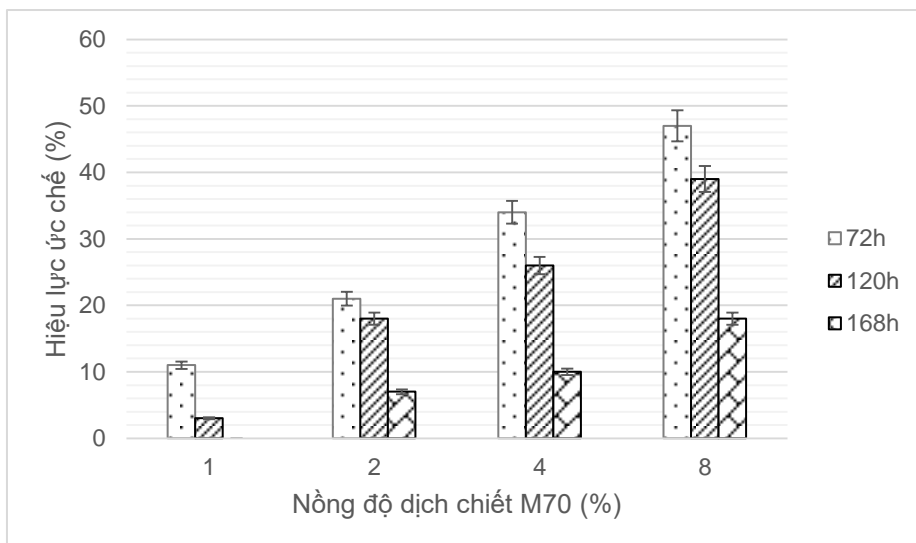


Hình 2. Hình thái nấm *Phytophthora* sp. trên môi trường PDA có bổ sung dịch chiết E90 ở các nồng độ khác nhau

Tại cùng một thời gian các đĩa chứa dịch chiết E90 8% đều cho thấy khả năng ức chế tốt hơn so với các dịch chiết ở các nồng độ còn lại. Dịch chiết ethanol 90% khi bổ sung vào môi trường khảo sát ở các nồng độ khác nhau đều có tác dụng ức chế sự phát triển của nấm trên thạch đĩa sau 168 giờ nuôi cấy. Nấm *Phytophthora* sp. không những có đường kính giảm dần theo chiều tăng của nồng độ dịch chiết E90 mà hình thái của nó cũng có sự biến đổi rõ rệt dưới tác dụng của chất kháng nấm có trong dịch chiết. Hình 2 cho thấy khi không có dịch chiết (0%), tản nấm phát triển nhanh, tơ nấm dày, có màu nâu và sợi nấm mất dần màu nâu, chuyển dần sang trắng đục theo chiều tăng của nồng độ dịch chiết. HLUC của dịch chiết E90 cao nhất ở nồng độ 8% và HLUC sau 168 giờ là 69,3%. Vì thế, dịch chiết E90 ức chế nấm *Phytophthora* sp. tốt nhất ở nồng độ 8% và sau 168 giờ đạt hiệu lực ức chế 69,3%.

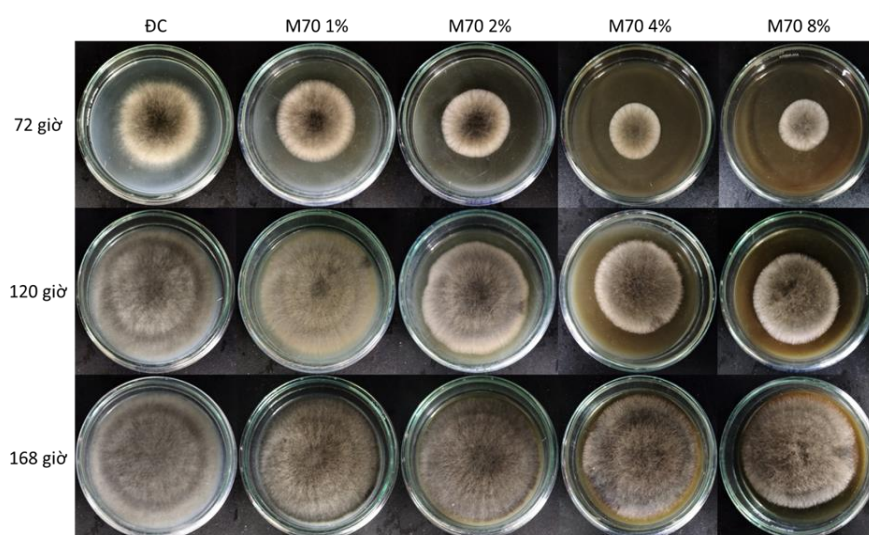
Ảnh hưởng của nồng độ dịch chiết methanol 70% đối với khả năng kháng nấm *Phytophthora* sp.

Kết quả đo ĐKTN *Phytophthora* sp. trên môi trường PDA có bổ sung dịch chiết methanol 70% (M70) tại các thời điểm 72, 120, 168 giờ. Qua đó tính hiệu lực ức chế (HLUC), kết quả thí nghiệm ở Hình 3.



Hình 3. Hiệu lực ức chế ĐKTN *Phytophthora* sp. của dịch chiết M70 ở các nồng độ theo thời gian (%)

Dịch chiết methanol 70% khi bổ sung vào môi trường khảo sát ở các nồng độ khác nhau cho thấy khả năng ức chế kém, hiệu lực ức chế sau 168 giờ chỉ đạt 18,2%. Hình 4 cho thấy hình thái nấm gần như tương tự nhau, không có sự khác biệt quá lớn so với đối chứng, tản nấm mọc dày, có màu nâu sậm. Vì thế, dịch chiết M70 ức chế nấm *Phytophthora* sp. kém hiệu quả, HLUC ở nồng độ 8% sau 168 giờ chỉ đạt 18,2%.



Hình 4. Hình thái nấm *Phytophthora* sp. trên môi trường PDA có bổ sung dịch chiết M70 ở các nồng độ khác nhau

Tóm lại, dịch chiết M70 ức chế nấm *Phytophthora* sp. kém, hiệu lực ức chế sau 168 giờ cao nhất chỉ đạt 18,2%, tản nấm mọc dày không có khác biệt đáng kể so với đối chứng. Dịch chiết E90 có tác dụng ức chế đối với nấm

Phytophthora sp.. Khi so sánh cả hai dung môi trên về HLUC thì dịch chiết E90 nhỉnh hơn hẳn khi đạt HLUC sau 168 giờ lên tới 69,3%, gấp 3,8 lần so với HLUC sau 168 giờ ở dịch chiết M70 chỉ là 18,2%. Mặc khác dịch chiết E90 còn tác động lên *Phytophthora* sp. gây ra hiện tượng mất màu sợi nấm, trong khi ở dịch chiết M70 không có được hiện tượng này. Kết quả thí nghiệm này cho thấy dịch chiết E90 ức chế nấm *Phytophthora* sp. tốt (69,3%), cao hơn 2 lần so với nghiên cứu của Ndacnou và đồng tác giả (2020) khi cũng chiết bằng dung môi ethanol nhưng hiệu quả ức chế chỉ đạt cao nhất ở 38,96%.

THẢO LUẬN

Kết quả phân tích hàm lượng flavonoid cho thấy khi chiết bằng hai loại dung môi ở những nồng độ khác nhau thì sẽ cho hàm lượng flavonoid toàn phần khác nhau. Đối với dung môi ethanol, hàm lượng flavonoid toàn phần bắt đầu tăng lên khi chiết ở nồng độ từ 30% đến 90% và hàm lượng flavonoid toàn phần đạt cao nhất tại nồng độ ethanol 90%. Đối với dung môi methanol, hàm lượng flavonoid toàn phần giảm khi chiết ở nồng độ từ 30% đến 50%, tiếp tục tăng nồng độ methanol lên 70%, tiếp tục tăng nồng độ methanol lên 90% thì hàm lượng flavonoid toàn phần không tăng mà có xu hướng giảm xuống. Điều này được giải thích là do mức độ phân cực của dung môi phụ thuộc vào hằng số điện môi, giá trị liên kết hydro, trong đó nước có hằng số điện môi, giá trị liên kết hydro cao hơn methanol và ethanol. Do đó, khi trộn lẫn methanol vào nước, ethanol và nước sẽ cho các hỗn hợp methanol - nước, ethanol - nước có mức độ phân cực khác nhau, nồng độ dung môi có độ phân cực tương đương với hợp chất được trích ly sẽ hòa tan chất đó tốt hơn. Từ kết quả thu được về hàm lượng flavonoid trong cây cỏ hôi ở nghiên cứu này và các tác giả trước đó có những khác biệt có thể là do khác nhau về nồng độ dung môi, độ phân cực của dung môi tách chiết, bộ phận thực vật sử dụng và tuổi của cây, phương pháp chiết xuất,.... Theo Omole và đồng tác giả (2012), hàm lượng flavonoid tổng trong cây cỏ hôi khi chiết bằng ethanol sử dụng bộ phận rễ (70,49 –243,02 µg QE/mL) và lá (68,92 – 182,45 µg QE/mL) thấp hơn hàm lượng flavonoid khi sử dụng tất cả các bộ phận của cây kết hợp với phương pháp tách chiết có sự hỗ trợ của sóng siêu âm, chiết bằng dung môi khác nhau và ở các nồng độ khác nhau (Omole *et al.*, 2012).

Kết quả nghiên cứu cho thấy dịch chiết E90 từ *A. conyzoides* có khả năng ức chế sự phát triển của nấm *Phytophthora* sp. một cách hiệu quả, trong khi đó dịch chiết M70 cho thấy khả năng ức chế kém hơn. Điều này có thể được giải thích thông qua hàm lượng flavonoid trong các dịch chiết, với E90 có hàm lượng flavonoid cao nhất đạt 15,609 mg/mL, trong khi M70 chỉ đạt 10,135 mg/mL. Flavonoid là nhóm hợp chất đã được chứng minh có hoạt tính kháng nấm mạnh, và sự khác biệt về hàm lượng flavonoid này có thể là nguyên nhân chính dẫn đến hiệu quả ức chế khác biệt giữa hai dịch chiết (Li *et al.*, 2022).

Tuy chưa có nghiên cứu cụ thể về khả năng kháng nấm *Phytophthora* sp. của *A. conyzoides*, kết quả của nghiên cứu phù hợp với các nghiên cứu đã công bố trước đó về các hoạt tính sinh học khác của loài cây này. Trong một nghiên cứu về các chất hóa học dị hợp do *A. conyzoides* giải phóng để kiểm soát cỏ dại và nấm gây bệnh trong đất ở các vườn cây họ cam quýt, 5'-methoxynobiletin và 5,6,7,3',4',5'-hexamethoxyflavone đã ức chế đáng kể sự phát triển của cỏ dại và sự nảy mầm của bào tử nấm gây bệnh trong đất *Phytophthora citrophthora*, *Pythium aphanidermatum* và *Fusarium solani* (Kong *et al.*, 2004) Nghiên cứu khác cho thấy rằng polymethoxyflavone có tác dụng tương tự đối với nấm như thuốc diệt nấm tổng hợp, phá vỡ tính toàn vẹn của màng tế bào bằng cách ức chế tổng hợp sterol, mặc dù cơ chế tăng tính thấm của màng có thể khác nhau (Wu *et al.*, 2014). Điều này làm cơ sở cho việc *A. conyzoides* có tiềm năng trở thành nguồn nguyên liệu kháng nấm tự nhiên, đặc biệt là khi sử dụng dịch chiết ethanol, và có thể được phát triển thành các sản phẩm sinh học bảo vệ cây trồng khỏi các loại nấm gây bệnh.

Một hạn chế của nghiên cứu này là chưa đánh giá được toàn bộ các hợp chất có trong dịch chiết và cơ chế tác động cụ thể của chúng. Hơn nữa, cần tiến hành các nghiên cứu bổ sung để khảo sát thêm các yếu tố như phương pháp chiết xuất khác và khả năng kháng nấm đối với các loài nấm khác để có cái nhìn toàn diện hơn về tiềm năng kháng nấm của *A. conyzoides*. Vì vậy, cần nghiên cứu thêm về cơ chế kháng nấm để phát triển thuốc kháng nấm mới sử dụng ngoài đồng ruộng, đặc biệt là trong điều trị bệnh chết nhanh ở cây hồ tiêu.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy quá trình trích ly hợp chất flavonoid từ cây cỏ hôi chịu ảnh hưởng bởi dung môi và nồng độ các loại dung môi tách chiết. Ethanol 90% và methanol 70% là hai dung môi trích được nhiều flavonoid nhất.

Kết quả thu được cho thấy, dịch chiết từ dung môi ethanol 90% có hiệu quả ức chế nấm *Phytophthora* sp. tốt hơn so với dịch chiết từ dung môi methanol 70%. Nồng độ dịch chiết càng cao thì khả năng ức chế càng tốt và tốt nhất ở nồng độ 8%. Do đó có thể dùng ethanol 90% để tách chiết hoạt chất từ cây cỏ hôi ứng dụng làm thuốc kháng nấm sinh học kháng bệnh do nấm *Phytophthora* sp. trên cây trồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Báidez AG, Gómez P, Del Río JA, Ortuño A (2006). Antifungal capacity of major phenolic compounds of *Olea europaea* L. against *Phytophthora megasperma* Drechsler and *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) Scholten. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 69(4-6): 224-229.

- Chahal R, Nanda A, Akkol EK, Sobarzo-Sánchez E, Arya A, Kaushik D, Mittal V (2021). *Ageratum conyzoides* L. and its secondary metabolites in the management of different fungal pathogens. *Molecules*, 26(10): 2933.
- Chang C, Yang M, Wen H, Chem J (2002). Estimation of flavonoid total content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(7): 178-182.
- Del Río JA et al.(2004). "Changes in the levels of polymethoxyflavones and flavanones as part of the defense mechanism of *Citrus sinensis* (cv. Valencia Late) fruits against *Phytophthora citrophthora*." *Journal of agricultural and food chemistry* 52.7, 1913-1917.
- Louise, Nana Wakam et al.(2011). "Flavonoid compounds synthesis by cocoa fruits (*Theobroma cacao* L.) in response to *Phytophthora megakarya* infection." *Res. J. Agric. Biol. Sci* 7 : 335-342.
- Li AP, He YH, Zhang SY, Shi YP (2022). Antibacterial activity and action mechanism of flavonoids against phytopathogenic bacteria. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 188: 105221.
- Islam SZ, Babadoost M, Lambert KN, Ndeme A, Fouly HM (2005). Characterization of *Phytophthora capsici* isolates from processing pumpkin in Illinois. *Plant Disease*, 89(2): 191-197.
- Jarvis, Charlie (2007): Chapter 7: Linnaean Plant Names and their Types (part A). In: Order out of Chaos. Linnaean Plant Types and their Types. London: Linnaean Society of London in association with the Natural History Museum: 252-342, ISBN: 978-0-9506207-7-0, DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.291971>
- Kong C, Liang W, Hu F, Xu X, Wang P, Jiang Y, Xing B (2004). Allelochemicals and their transformations in the *Ageratum conyzoides* intercropped citrus orchard soils. *Plant Soil* 2004, 264: 149–157.
- Ndacnou MK, Pantaleon A, Tchinda JBS, Mangapche ELN, Keumedjio F, Boyoguemo DB (2020). Phytochemical study and antimycete activity of *Ageratum conyzoides* Linnaeus. *Industrial crops and products*, 153 112589.
- Nicolopolou-Stamati P, Maipas S, Kotampasi C, Stamatis P, Hens L (2016). Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. *Frontiers in public health*, 4: 148.
- Omole OA, Oladipo JO, Orimolade BO, Ajetomobi OO, Olorunmaiye KS, Dosumu OO (2019). Anti-Oxidant and Anti-Microbial Activities of the Root and Leaf Extracts of *Ageratum conyzoides* L. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 84(3): 295-304.
- Wu T, Cheng D, He M, Pan S, Yao X, Xu X (2014) Antifungal action and inhibitory mechanism of polymethoxylated flavones from *Citrus reticulata* Blanco peel against *Aspergillus niger*. *Food Control* 2014, 35: 354–359.
- Wuyep PA, Musa HD, Ezemokwe GC, Nyam DD, SilaGyang MD (2017). Phytochemicals from *Ageratum conyzoides* L. extracts and their antifungal activity against virulent *Aspergillus* spp. *Journal of Academia and Industrial Research*: 32-39.

SURVEY OF RESISTANCE TO FUNGUS *Phytophthora* sp. OF EXTRACT OF AGERATUM CONYZOIDES

Nguyen Ba Khanh Trinh^{*}, Tran Thi Thu Phuong, Nguyen Dinh Thao Ngan, Nguyen Thi Nhu Quynh

Institute of Tropical Biology-Vietnam Academy of Science and Technology, Nong Lam University Ho Chi Minh City

SUMMARY

Ageratum conyzoides L. (*A. conyzoides*), also known as the billygoat-weed, is a widespread weed with vigorous growth and high resistance to fungal diseases. Some studies have shown that flavonoids are the main active compounds with inhibitory effects against the fungus *Phytophthora*. Therefore, this study aims to investigate the influence of solvent concentration on the extraction efficiency of flavonoid compounds using two different solvents, ethanol and methanol, at varying concentrations (30%, 50%, 70%, and 90%) through UV-Vis spectrophotometry. The results showed that the highest flavonoid content was extracted using 90% ethanol (15.609 ± 0.139 mg/mL) and 70% methanol (10.135 ± 0.185 mg/mL). Furthermore, the antifungal activity against *Phytophthora* sp. was evaluated by measuring the inhibition of fungal colony diameter on agar plates at 168 hours after inoculation, with the extract concentrations tested being 0%, 1%, 2%, 4%, and 8%. The results indicated that 90% ethanol was the most suitable solvent concentration for extracting antifungal compounds, with an extract concentration of 8%. Additionally, two-factor ANOVA analysis showed an interaction between solvent concentration and extract concentration on the growth of *Phytophthora* sp. Therefore, *A. conyzoides* has the potential to be applied in the control of certain fungal pathogens in crops, with the prospect of being developed into a biological plant protection agent.

Keywords: *Ageratum conyzoides*, ethanol and methanol extracts, *Phytophthora*, antifungal.

^{*} Author for correspondence: Tel: +84-4521955; Email: nbkt12.1lv@gmail.com