



DOI:10.22144/ctujos.2025.084

HIỆU QUẢ KIỂM SOÁT NẤM *Colletotrichum* SP. VÀ *Fusarium solani* GÂY BỆNH CÂY TRỒNG CỦA MỘT SỐ DỊCH TRÍCH THỰC VẬT Ở ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Nguyễn Khởi Nghĩa^{1*}, Bùi Thị Lê Minh¹, Đặng Huỳnh Giao², Nguyễn Hữu Thiện¹, Phạm Thị Ngọc Tuyền³, Phan Văn Lạc³ và Lê Thị Như Bằng³

¹Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

²Trường Bách Khoa, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

³Sinh viên ngành Bảo vệ thực vật, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): nknghia@ctu.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 21/10/2024

Sửa bài (Revised): 02/12/2024

Duyệt đăng (Accepted): 01/03/2025

Title: Antagonistic efficacy in controlling *Colletotrichum* sp. and *Fusarium solani* causing plant disease by some plant extracts under laboratory conditions

Author(s): Nguyen Khoi Nghia*, Bui Thi Le Minh, Dang Huynh Giao, Nguyen Huu Thien, Pham Thi Ngoc Tuyen, Phan Van Lac and Le Thi Nhu Bang

Affiliation(s): ¹College of Agriculture, Can Tho University, Viet Nam; ²College of Engineering, Can Tho University, Viet Nam; ³Student of Plant Protection Department, College of Agriculture, Can Tho University, Viet Nam

TÓM TẮT

Nhiều loại dịch trích thực vật như trúc đào, trầu không, thu thảo và tỏi có khả năng ức chế vi sinh gây bệnh cây trồng. Nghiên cứu được thực hiện nhằm tuyển chọn loại dịch trích thực vật có khả năng kiểm soát tốt khuẩn ty và bào tử nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* ở điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả nghiên cứu cho thấy cả 4 loại dịch trích thực vật khảo sát đều có khả năng ức chế tốt nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* với hiệu quả ức chế dao động từ 1,4 đến 100%, trong đó nghiệm thức sử dụng dịch trích tỏi nồng độ 10% với dung môi là ethanol 20° có khả năng ức chế hoàn toàn khuẩn ty nấm trên môi trường PDA, đồng thời ức chế hoàn toàn sự hình thành và phát triển bào tử 2 dòng nấm này trong môi trường PDB sau 9 ngày. Tóm lại, dịch trích tỏi 10% có khả năng ức chế rất tốt sự phát triển hệ sợi và bào tử nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* ở điều kiện phòng thí nghiệm và có tiềm năng cao trong kiểm soát bệnh cây trồng.

Từ khóa: *Colletotrichum* sp., dịch trích thực vật, *Fusarium solani*, tỏi, thân thư, vàng lá thối rễ

ABSTRACT

Many types of plant extracts, such as rose laurel, piper betle, hairy beggarticks and garlic bulb, can biocontrol plant pathogens to reduce the use of chemical pesticides. The objective of the study was to select the best plant extract to control mycelium and fungal spores of *Colletotrichum* sp. and *Fusarium solani*, causing plant diseases under laboratory conditions. Research results showed that all 4 types of plant extracts could inhibit *Colletotrichum* sp. and *Fusarium solani*, with inhibition efficiency ranging from 1.4-100%, in which the treatment using garlic extract at a concentration of 10% with ethanol 20° as a solvent could totally inhibit fungal mycelium on PDA medium. Moreover, garlic extract completely inhibited the spore formation and development of these two fungi in PDB medium after 9 incubation days. In summary, 10% garlic extract can inhibit the growth of mycelium and spores of *Colletotrichum* sp. and *Fusarium solani* under laboratory conditions and has a high potential for application to control plant diseases.

Keywords: Anthracnose, *Colletotrichum* sp., *Fusarium solani*, garlic, plant extract, root rot

1. GIỚI THIỆU

Trong suốt quá trình sinh trưởng, cây ớt bị tấn công bởi nhiều loài vi sinh vật gây bệnh khác nhau, điển hình như tổ hợp các mầm bệnh như *Phytophthora* spp., *Fusarium solani* và *Rhizoctonia solani* gây bệnh chết cây con, vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh và nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh héo vàng. Đặc biệt, bệnh thán thư do các loài nấm *Colletotrichum* spp. gây ra là bệnh hại quan trọng nhất trên cây ớt do mầm bệnh có thể xâm nhiễm và gây hại từ giai đoạn cây con đến mang trái, gây thiệt hại lớn về năng suất và mất giá trị thương phẩm sau thu hoạch. Trong khi đó, nhóm cây có múi bị nhiều loại bệnh hại tấn công như bệnh vàng lá thối rễ, bệnh vàng lá gân xanh, bệnh Tristeza,... đặc biệt dòng nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rễ quan trọng trên cây có múi, đặc biệt là cây cam sành và quýt hồng tại vùng đồng bằng sông Cửu Long, làm thất thu năng suất và ảnh hưởng đến chất lượng trái nghiêm trọng (Nguyen & Pham, 2002; Phan, 2005).

Ngày nay, việc phòng trừ bệnh hại cây trồng bằng biện pháp sinh học trong đó việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật sinh học có nguồn gốc từ thảo mộc đang được tập nghiên cứu và ứng dụng vì tính an toàn và thân thiện với môi trường sinh thái của nó (Sikandar et al., 2018; Recinella et al., 2019; Hussain et al., 2023). Kết quả được đưa ra từ nhiều nghiên cứu cho thấy dịch trích của 4 loại thực vật gồm thu thảo (*Tridax procumbens* L.), trầu không (*Piper betle* L.), trúc đào (*Nerium oleander* L.) và tỏi (*Allium sativum*) có chứa nhiều hoạt tính kháng sinh, các thành phần chủ yếu của cây thu thảo là alkaloid, carotenoid, flavonoid và vitannin; trong đó carotenoid và saponin là 2 chất chứa nhiều trong cây (Ahmed, 2001; Edeoga et al., 2005), lá trầu không có chứa từ 0,8 đến 1,8% tinh dầu thơm, có vị nồng, gồm chủ yếu là 2 phenol: betel-phenol là đồng phân của eugenol và chavicol kèm theo nhiều hợp chất phenolic khác như eugenol, carvacrol, chavicol, allylcatechol, chavibetol, cineol, estragol, methyl eugenol, p-cymen, caryophyllene, cadinen; tanin cùng với nhiều vitamin, các axit amin,..., oleandrin và neriin, đều là các glicosid tim mạch (Goetz, 1998). Vỏ cây trúc đào chứa diosgenin, tác động tương tự như strychnin, trong khi aliin, allicin, ajoene, allylpropyl, diallyl, trisulfide, sallylcysteine, vinylthiines, sallylmercaptocystein, diallyl diosulfinate (DADS), diallyl thiosulfinate (DATS) được chứng minh là những hoạt chất sinh học chính của dịch trích tỏi với nhiều chức năng khác nhau (Martins et al., 2016).

Ở nhiều nghiên cứu trước, việc chứng minh các hoạt chất có hoạt tính sinh học chứa trong dịch trích của 4 loại thực vật này đã được thực hiện, kết quả cho thấy chúng có khả năng kiểm soát nhiều mầm bệnh gây hại trên người, vật nuôi và cây trồng thông qua các tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm (Coppi et al., 2006; Ayazi, 2011; Wallock et al., 2014), kháng virus (Corzo et al., 2007), chống lại sự hình thành các tế bào ung thư trên người (Rana et al., 2011; Lee et al., 2013). Kết quả nghiên cứu của Swami and Alane (2013) cho thấy dịch trích của cây thu thảo (*Tridax procumbens*) trích bằng nước có khả năng ức chế sự phát triển khuẩn ty của 7 loài nấm khác nhau gồm: *A. alternata* (53,8%), *F. oxysporum* (55,7%), *R. solani* (22,5%), *Cladosporium* sp. (44,2%), *Phytophthora* sp. (22,3%), *A. niger* (39,1%) và *C. lunata* (41,9%). Kết quả nghiên cứu của Patel et al. (2013) cho thấy dịch trích từ lá trầu có khả năng ức chế tốt nhiều dòng nấm và vi khuẩn, điển hình như *A. alternata*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *E. coli*,... Bên cạnh đó, kết quả ở một nghiên cứu về việc sử dụng dịch chiết lá trúc đào trong bảo quản gỗ thông cho thấy ở tất cả các công thức dịch chiết từ lá trúc đào đều không có nấm phát triển khi quét lên bề mặt gỗ (Nguyen & Nguyen, 2018). Các hoạt chất allicin trong tỏi giúp kiểm soát tốt được nhiều nhóm vi sinh vật gây hại, hàm lượng chất này trong củ tỏi cao hơn gấp 4 lần so với các loại rau chứa lưu huỳnh khác (Monika et al., 2023). Kết quả được đưa ra từ nghiên cứu của Hayat et al. (2016) cho thấy, dịch trích của 28 loại tỏi có nguồn gốc từ Trung Quốc có nồng độ allicin cao, dao động từ 0,66 đến 3,98 mg/g tỏi, là tác nhân chính trong việc kiểm soát 4 dòng nấm gây bệnh trên dưa leo (*Cucumis sativus*) gồm *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Verticillium dahliae* và *Phytophthora capsici*. Đồng thời, việc phun dịch trích tỏi còn giúp gia tăng khả năng chống chịu của cây dưa leo dưới điều kiện bất lợi của môi trường và góp phần gia tăng năng suất dưa leo ở điều kiện nhà lưới và ngoài đồng, điều này là do các hợp chất trong dịch trích tỏi đã giúp hoạt hóa các phản ứng trong thân cây để hình thành các hợp chất có hoạt tính kháng. Kết quả nghiên cứu của Mougou et al. (2018) cho thấy, việc phun dịch trích tỏi cho hiệu quả kiểm soát bệnh đốm lá vi khuẩn trên cây có múi do vi khuẩn *Pseudomonas syringae* gây ra với hiệu quả lên đến 70,8% ở điều kiện nhà lưới. Tóm lại, việc sử dụng dịch trích từ 4 loại thực vật gồm trúc đào, trầu không, thu thảo và tỏi có thể kiểm soát các mầm bệnh gây hại cây trồng. Việc đánh giá khả năng kiểm soát hiệu quả của 4 loại dịch trích thực vật này lên khả năng kiểm soát nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên ớt và *Fusarium solani* gây bệnh

vàng lá thối rữa trên cây có múi, từ đó chọn ra 1 loại dịch trích thực vật có khả năng kiểm soát 2 dòng nấm bệnh này tốt nhất, làm cơ sở để tạo ra quy trình trích ly trích nhằm tạo ra 1 sản phẩm sinh học để phòng trừ sinh học bệnh cây trồng, tăng cường sức khỏe cây trồng, kích thích tăng trưởng góp phần giảm thiểu ô nhiễm môi trường, tạo ra các sản phẩm sạch, an toàn cho sức khỏe người tiêu dùng và người sản xuất là cần thiết được thực hiện. Tuy nhiên, ở Việt Nam, việc tiến hành các nghiên cứu về dịch trích thực vật lên ức chế vi sinh vật gây bệnh hại cây trồng còn hạn chế, do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu tuyển chọn một dịch trích thực vật có khả năng ức chế bệnh hại cây trồng để làm cơ sở cho phát triển chế phẩm sinh học từ dịch trích thực vật để quản lý bệnh hại cây trồng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phương tiện

Nguồn nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên trái ớt và nấm *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rữa trên cam sành được cung cấp từ phòng thí nghiệm Sinh học Đất, Khoa Khoa học Đất, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ được nuôi cấy 7 ngày trên môi trường môi trường PDA trước thời gian bố trí thí nghiệm.

Trúc đào (*Nerium oleander* L.), thu thảo (*Tridax procumbens*) và lá trâu không (*Piper betle*) được thu thập vào buổi sáng sớm tại khu vực quận Cái Răng và quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ. Củ tỏi được sử dụng trong nghiên cứu là giống tỏi Trung Quốc được mua từ siêu thị MegaMart Cần Thơ.

Thuốc trừ nấm bệnh hóa học MAP ROTA 50 WP có hoạt chất Kresoxim-methyl 50% w/w được sản xuất bởi Công ty TNHH Map Pacific có tác động lưu dẫn, phổ rộng, kiểm soát tốt *Colletotrichum* spp. và *Fusarium solani* được sử dụng làm đối chứng dương trong thí nghiệm.

Đĩa petri, cối nghiền, ethanol, tủ ủ, tủ cấy và môi trường Potato Dextrose Agar (PDA): thành phần trong 1 L môi trường chứa 200 g khoai tây, 20 g Dextrose và 15 g Agar.

2.2. Phương pháp thực hiện

2.2.1. Đánh giá khả năng ức chế khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* của 4 loại dịch trích thực vật

* Mục tiêu

Mục tiêu được xác định trong nghiên cứu là chọn ra 1 loại dịch trích thực vật có khả năng ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh

thán thư trên ớt và *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rữa trên cam sành ở điều kiện phòng thí nghiệm.

* Chuẩn bị dịch trích thực vật

Việc chọn ethanol 20° là dung môi dùng để ly trích dịch trích của các loại thực vật trong thí nghiệm được dựa trên ba kết quả nghiên cứu trước đây của Tasiwal et al. (2009), Ho (2016) và Khan et al. (2022).

Dịch trích được trích theo tỷ lệ 1:1 w/v (100 g lá tươi hoặc củ tỏi nghiền/100 mL ethanol 20°). Mẫu tươi được nghiền nhuyễn, sau đó chuyển toàn bộ lượng mẫu vào cốc thủy tinh, bổ sung 100 mL ethanol 20°, trộn đều trong 1 phút và để yên hỗn hợp trong 1 giờ, sau đó lọc qua 3 lớp vải để loại bỏ phần bã, phần dịch trích tiếp tục được lọc qua giấy lọc cellulose acetate có đường kính lỗ lọc 0,45 µm. Dung dịch thu được sau khi lọc được xem như là dung dịch gốc với nồng độ 100%.

* Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm khảo sát khả năng ức chế khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* của 4 loại dịch trích thực vật được thực hiện theo phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch của Harris et al. (1989).

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 5 nghiệm thức với 4 lần lặp lại cho mỗi loại dịch trích thực vật khảo sát với 1 dòng nấm bệnh, mỗi lặp lại tương ứng với một đĩa Petri chứa 20 mL môi trường PDA có chứa nồng độ dịch trích thực vật theo từng nghiệm thức tương ứng. Các nghiệm thức được liệt kê như sau:

Nghiệm thức 1: Đối chứng (chỉ chứa PDA),

Nghiệm thức 2: Ethanol 20°,

Nghiệm thức 3: 10% dịch trích thực vật,

Nghiệm thức 4: 20% dịch trích thực vật,

Nghiệm thức 5: 30% dịch trích thực vật.

Các nghiệm thức sử dụng dịch trích thực vật ở nồng độ 10%, 20% và 30% được thực hiện bằng cách hút lần lượt 10, 20 và 30 mL dịch trích ở nồng độ gốc hòa tan lần lượt với 90, 80 và 70 mL môi trường PDA sau khi được thanh trùng và để nguội ở nhiệt độ khoảng 50°C. Nghiệm thức đối chứng ethanol được thực hiện bằng cách cho 30 mL ethanol 20° hòa với 70 mL môi trường PDA. Sau đó, chúng được khuấy đều trong 2 phút bằng máy khuấy từ và cho môi trường vào đĩa Petri, mỗi đĩa 20 mL. Sau

khi môi trường đông đặc, việc chủng nấm gây bệnh vào trên bề mặt môi trường được tiến hành bằng cách dùng Pasteur pipette thủy tinh có đường kính 6 mm để cắt khoanh môi trường PDA chứa khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* đã được chuẩn bị trước đó 7 ngày. Khoanh khuẩn ty nấm được đặt vào vị trí trung tâm các đĩa Petri chứa môi trường đã bổ sung dịch trích thực vật theo từng nghiệm thức. Parafim được dán bên ngoài đĩa Petri để tránh nhiễm mẫu và mẫu được đặt trong tủ ủ 30°C. Đường kính phát triển của tơ nấm vào các thời điểm 1, 3, 5 và 7 ngày sau khi bố trí thí nghiệm đối với nấm *Fusarium solani* và 3, 5, 7 và 9 ngày đối với nấm *Colletotrichum* sp. đã được ghi nhận (thời điểm khuẩn ty nấm bệnh ở nghiệm thức đối chứng phát triển chạm vào thành đĩa Petri). Hiệu quả ức chế của dịch trích thực vật đối với sự phát triển của khuẩn ty nấm được tính theo công thức (1) của Kaur et al. (2021).

$$\text{Hiệu quả ức chế (\%)} = (\text{ĐC} - \text{DT}) / \text{ĐC} \times 100 \quad (1)$$

ĐC: đường kính nấm ở nghiệm thức đối chứng nước,

DT: đường kính nấm ở nghiệm thức xử lý với dịch trích thực vật.

2.2.2. Đánh giá ảnh hưởng của các nồng độ dịch trích tỏi khác nhau lên khả năng ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm *Fusarium solani* và *Colletotrichum* sp.

Kết quả đánh giá hiệu quả kiểm soát khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* của 4 loại dịch trích thực vật gồm trúc đào, trầu không, thu thảo và củ tỏi cho thấy nghiệm thức xử lý dịch trích từ củ tỏi 10% cho hiệu quả ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm *Fusarium solani* và *Colletotrichum* sp. tốt nhất, do đó dịch trích tỏi được lựa chọn để thực hiện thí nghiệm khảo sát nồng độ tối ưu ức chế sự phát triển khuẩn ty của 2 dòng nấm bệnh này trong điều kiện *in vitro* trên môi trường PDA.

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với tổng cộng 11 nghiệm thức cho mỗi dòng nấm bệnh khảo sát gồm 1 nghiệm thức đối chứng chỉ chứa môi trường PDA và 10 nghiệm thức sử dụng dịch trích tỏi có nồng độ từ 1% đến 10%, mỗi lặp lại tương ứng với 1 đĩa Petri chứa 20 mL môi trường PDA chứa nồng độ dịch trích tỏi tương ứng.

Các nghiệm thức sử dụng dịch trích tỏi ở các nồng độ 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% và 10% được thực hiện bằng cách hút lần lượt 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 và 10 mL dịch trích tỏi gốc 100% cho

vào lần lượt 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91 và 90 mL môi trường PDA sau khi được thanh trùng và để nguội ở nhiệt độ khoảng 50°C. Sau đó, hỗn hợp được khuấy đều trong 2 phút bằng máy khuấy từ và chuyển môi trường vào đĩa Petri. Sau khi môi trường đặc lại, chuyển khoanh khuẩn ty nấm đã được chuẩn bị trước đó vào giữa các đĩa môi trường, parafim được dán bên ngoài đĩa Petri để tránh nhiễm mẫu và mẫu được đặt trong tủ ủ 30°C.

Hiệu quả ức chế khuẩn ty nấm bệnh được xác định dựa theo phương pháp của Kaur et al. (2021) và được mô tả ở mục 2.2.1

2.2.3. Đánh giá ảnh hưởng của dịch trích tỏi lên khả năng ức chế sự hình thành bào tử nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* trong môi trường PDB lỏng

Kết quả đánh giá hiệu quả kiểm soát khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* bằng dịch trích tỏi cho thấy dịch trích củ tỏi 10% cho hiệu quả ức chế khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* tốt nhất, khác biệt ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Do đó, dịch trích củ tỏi ở nồng độ 10% được lựa chọn sử dụng để thực hiện thí nghiệm khảo sát khả năng ức chế sự hình thành bào tử nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* trong môi trường PDB lỏng ở điều kiện *in vitro*.

* Chuẩn bị bào tử nấm và môi trường Potato Dextrose Broth

Nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* được nuôi cấy trên môi trường PDA 7 ngày trước khi bố trí thí nghiệm. Sau đó, việc thu bào tử nấm trên môi trường PDA được tiến hành bằng cách cho 10 mL nước cất tiệt trùng vào từng đĩa môi trường PDA chứa nấm. Kính mang vật được dùng để cạo nhẹ trên bề mặt môi trường để thu bào tử, sau đó lọc dịch huyền phù bào tử nấm qua 1 lớp băng gạc vô trùng để loại bỏ cặn và sợi nấm. Việc xác định mật số bào tử thu được được tiến hành bằng cách đếm trên buồng đếm tế bào Neubauer cải tiến.

Môi trường Potato Dextrose Broth (PDB) được chuẩn bị như sau: Khoai tây rửa sạch, gọt vỏ, cắt lát mỏng. Nấu 200 g khoai tây đã cắt lát mỏng trong nước, giữ sôi trong khoảng 30 - 40 phút. Lọc thu dịch chiết loại bỏ cặn. Sau đó, 20 gram đường Dextrose được hoà tan vào dịch chiết, thêm nước cho đủ 1.000 mL, thu được môi trường PDB. Tiếp theo, 30 mL môi trường được cho vào các bình tam giác 50 mL. Hấp khử trùng môi trường ở 121°C, 1 atm trong 20 phút theo Gams et al. (1998).

* Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 3 nghiệm thức và 4 lần lặp lại cho mỗi dòng nấm khảo sát, mỗi lặp lại tương ứng với 1 bình tam giác chứa 30 mL môi trường PDB với nồng độ dịch trích tòi và thuốc hóa học tương ứng theo từng nghiệm thức. Các nghiệm thức thí nghiệm được liệt kê như sau:

Nghiệm thức 1: Môi trường PDB (Đối chứng).

Nghiệm thức 2: Môi trường PDB chứa dịch trích tòi nồng độ 10%.

Nghiệm thức 3: Thuốc trừ nấm bệnh hóa học hoạt chất Kresoxim-methyl 250 ppm (khuyến cáo).

Sau khi các bình tam giác chứa môi trường nuôi cấy với dịch trích tòi và thuốc trừ nấm hóa học tương ứng với các nghiệm thức khác nhau được tiệt trùng và để nguội, lần lượt chuyển dung dịch huyền phù bào tử nấm *F. solani* và *Colletotrichum* sp. đã được chuẩn bị ở trên cho vào các bình tam giác thí nghiệm để đạt mật số bào tử là 10^5 bào tử/mL môi trường. Sau đó, các bình tam giác chứa mẫu được đặt trên máy lắc với tốc độ 100 vòng/phút ở điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm và tiến hành ghi nhận chỉ tiêu số lượng bào tử/mL môi trường nuôi cấy ở các thời điểm 3, 5, 7 và 9 ngày sau khi bố trí thí nghiệm bằng phương pháp đếm trực tiếp trên buồng đếm hồng cầu (Neubauer), đồng thời tiến hành quan sát hình thái bào tử và hệ sợi nấm bằng kính hiển vi quang học.

2.3. Phân tích số liệu

Số liệu thí nghiệm được xử lý trên phần mềm Excel và kiểm định thống kê ANOVA, so sánh bằng phép thử Tukey bằng phần mềm Minitab 16.2.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá khả năng ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* của 4 loại dịch trích thực vật

Kết quả khảo sát khả năng ức chế khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* của 4 loại dịch trích khảo sát gồm lá trúc đào, thu thảo, trầu không và củ tỏi được trình bày trong Bảng 1. Nhìn chung, tất cả 4 loại dịch trích thực vật đều cho hiệu quả ức chế tốt khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* với hiệu quả ức chế (HQUC) dao động lần lượt từ 8,6 đến 100% và từ 1,4 đến 100%. Trong đó nhóm nghiệm thức xử lý với dịch trích củ tỏi cho kết quả ức chế khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* tốt nhất khi cả 3 nồng độ khảo sát đều có HQUC đạt 100%, cao hơn và khác

biệt ý nghĩa thống kê so với 3 loại dịch trích còn lại ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Tukey's ($p < 0,05$). Bên cạnh đó, kết quả còn có thể cho thấy hiệu quả ức chế khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. của dịch trích lá trúc đào, thu thảo và trầu không có xu hướng tăng dần từ thời điểm 3 ngày sau bố trí (NSBT) đến 7 NSBT, sau đó giảm xuống ở thời điểm 9 NSBT, trong khi hiệu quả ức chế nấm *Fusarium solani* của 3 loại dịch trích này tăng dần đến thời điểm 3 NSBT và giảm dần ở 2 thời điểm 5 và 7 NSBT.

Ba nghiệm thức sử dụng dịch trích tòi ở nồng độ 10%, 20% và 30% ức chế hoàn toàn khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. (HQUC đạt 100%) và duy trì ở tất cả các thời điểm khảo sát, cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Bên cạnh đó nhóm nghiệm thức xử lý dịch trích lá trầu không có hiệu quả ức chế cao hơn so với nhóm dịch trích thu thảo và trúc đào ở cùng nồng độ khảo sát tại nồng độ 30% và 20%. Cụ thể HQUC nấm *Colletotrichum* sp. của nghiệm thức trầu không nồng độ 30% và 20% đạt lần lượt là 65,4 - 77,8% và 25,9 - 39,5%, cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức dịch trích thu thảo và trúc đào ở cùng nồng độ so sánh với lần lượt là 33,3 - 54% và 25,9 - 44,7% ở nồng độ 30% dịch trích, 23,5 - 32,9% và 22,1 - 35,5% ở nồng độ 20% dịch trích ($p < 0,05$). Ngoài ra, kết quả khảo sát cũng cho thấy nghiệm thức xử lý 30% ethanol 20° cũng có khả năng ức chế nấm *Colletotrichum* sp., tuy nhiên thấp hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với tất cả các nghiệm thức sử dụng dịch trích thực vật ($p < 0,05$).

Tương tự, dịch trích tòi ức chế hoàn toàn khuẩn ty nấm *Fusarium solani* ở cả 3 nồng độ gồm 10%, 20% và 30% và duy trì ổn định ở cả 4 thời điểm khảo sát, cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Dịch trích trầu không ở nồng độ 30% có hiệu quả ức chế dao động từ 27,7 đến 42,7%, cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức xử lý dịch trích thu thảo và trúc đào ở cùng nồng độ (30%) khảo sát với lần lượt là 22,1 - 33,3% và 20,4 - 23% ($p < 0,05$). Dịch trích thu thảo với nồng độ trích 30% cũng cho hiệu quả cao tuy nhiên hiệu quả ức chế không ổn định. Cụ thể, ở thời điểm 1 và 3 NSBT, nghiệm thức xử lý dịch trích thu thảo 30% cho hiệu quả ức chế tương đương với nghiệm thức xử lý dịch trích lá trầu không ở cùng nồng độ. Tuy nhiên ở thời điểm 5 và 7 NSBT, hiệu quả ức chế của dịch trích thu thảo thấp hơn so với nghiệm thức xử lý dịch trích trầu không ở cùng nồng độ 30% ($p < 0,05$). Ngoài ra, dịch trích lá trúc đào có hiệu quả thấp nhất trong 4 loại dịch trích được khảo sát.

Bảng 1. Hiệu quả ức chế khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* của bốn loại dịch trích thực vật

Nghiệm thức	Hiệu quả ức chế (%)							
	<i>Colletotrichum</i> sp.				<i>Fusarium solani</i>			
	3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT	9 NSBT	1 NSBT	3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT
30% ethanol 20°	9,8 ^h	11,9 ⁱ	8,5 ⁱ	2,31 ^j	13,8 ^e	5,1 ^e	5,5 ^g	9,7 ^e
Trúc đào nồng độ 10%	11,1 ^g	28,6 ^f	31,6 ^g	21,0 ^g	14,7 ^e	6,6 ^e	3,3 ^g	2,2 ^f
Trúc đào nồng độ 20%	22,1 ^c	22,5 ^g	35,5 ^f	24,7 ^f	21,3 ^d	14,6 ^d	16,1 ^c	20,3 ^{cd}
Trúc đào nồng độ 30%	25,9 ^d	32,7 ^e	44,7 ^d	32,1 ^d	22,7 ^d	20,4 ^c	23,0 ^d	20,7 ^{cd}
Trầu nồng độ 10%	11,1 ^g	12,2 ⁱ	23,7 ^h	8,6 ⁱ	6,7 ^f	2,2 ^f	1,6 ^h	1,4 ^f
Trầu nồng độ 20%	25,9 ^d	38,8 ^d	39,5 ^e	29,6 ^e	20,0 ^d	15,4 ^d	11,5 ^f	14,8 ^{de}
Trầu nồng độ 30%	77,8 ^b	77,6 ^b	72,9 ^b	65,4 ^b	42,7 ^b	39,3 ^b	34,3 ^b	27,7 ^b
Thu thảo nồng độ 10%	18,5 ^f	18,4 ^h	23,7 ^h	11,1 ^h	14,0 ^e	8,0 ^e	2,7 ^g	2,5 ^f
Thu thảo nồng độ 20%	25,9 ^d	28,6 ^f	32,9 ^g	23,5 ^f	22,7 ^d	20,1 ^c	18,0 ^c	16,3 ^d
Thu thảo nồng độ 30%	33,3 ^c	42,9 ^c	54,0 ^c	48,2 ^c	33,3 ^c	35,8 ^b	27,9 ^c	22,1 ^{bc}
Tỏi nồng độ 10%	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a
Tỏi nồng độ 20%	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a
Tỏi nồng độ 30%	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a
F	*	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	1,13	1,64	1,30	1,21	7,01	5,66	3,51	1,47

Ghi chú: NSBT: ngày sau bố trí; (): khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5%. Trong cùng một cột các giá trị trung bình có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Tukey's

Dịch trích củ tỏi ở cả ba nồng độ 10%, 20% và 30% cho HQUC đạt 100% và duy trì hiệu lực ở tất cả các thời điểm khảo sát. Điều này cho thấy dịch trích củ tỏi có hiệu quả ức chế rất cao đối với sự phát triển khuẩn ty của 2 loại nấm gây bệnh cây trồng *Fusarium solani* và *Colletotrichum* sp. Dịch trích tỏi đã ức chế hoàn toàn sự phát triển hệ sợi nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* trong thí nghiệm, vì vậy ở những thời điểm khảo sát còn lại, khuẩn ty của 2 dòng nấm bệnh này không thể phát triển được. Nguyên nhân có thể là do trong dịch trích củ tỏi có chứa các hoạt chất là tinh dầu và các hợp chất kháng khuẩn gồm allycin, allycetoin, acid nicotinic và enzyme alliinase (Vo, 2004). Các hợp gồm aliin, allicin, ajoene, allylpropyl, diallyl, trisulfide, sallylcysteine, vinyldithiines, sallylmercaptocystein, diallyl diosulfinate (DADS), diallyl thiosulfinate (DATS) được chứng minh là những hoạt chất sinh học chính của dịch trích tỏi có nhiều chức năng sinh học khác nhau, trong đó điển hình là khả năng kiểm soát khả năng hình thành bào tử và hệ sợi nấm (Martins et al., 2016).

Bên cạnh đó, kết quả còn có thể cho thấy ba loại dịch trích thực vật còn lại gồm trúc đào, trầu không và thu thảo cũng có khả năng ức chế sự phát triển sợi nấm *F. solani* và *Colletotrichum* sp. Kết quả được đưa ra ở nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng

các loại thực vật này đều có hoạt tính kháng nấm. Cụ thể, dịch trích lá thu thảo có chứa các hợp chất như alkaloid, flavonoid và tannin, trong đó carotenoid và saponin là 2 chất chứa nhiều trong cây (Edeoga et al., 2005; Mundada & Shivhare, 2010), những hợp chất này có khả năng kháng nấm với cơ chế tác động lên thành tế bào của vi sinh vật, làm bất hoạt các enzyme của vi sinh vật và làm kết dính protein từ đó ảnh hưởng đến sự phát triển của vi sinh vật nói chung và nấm bệnh cây trồng nói riêng (Cowan, 1999). Kết quả nghiên cứu của Bui (2016) cho thấy dịch trích từ lá thu thảo ở bất kỳ nồng độ nào cũng đều cho hiệu quả ức chế tốt khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và qua đã chứng minh cho thấy khi trích dịch trích bằng ethanol 20° cho hiệu quả ức chế khuẩn ty cao hơn khi trích bằng nước cất thanh trùng. Bên cạnh đó, trúc đào là một loại cây chứa nhiều hợp chất độc, đặc biệt là oleandrin và nerine đều là các glicosid, rosagenin - có các tác động tương tự như strychnin với độc tính cao, không màu, đắng, được sử dụng làm thuốc trừ sâu (Goetz, 1998). Tuy nhiên kết quả của nghiên cứu này cho thấy dịch trích lá trúc đào không có hiệu quả ức chế cao đối với nấm *Fusarium solani* và *Colletotrichum* sp. và cũng không có nhiều nghiên cứu được công bố về tác dụng ức chế nấm bệnh trên thực vật của dịch trích lá trúc đào. Dịch trích lá trầu không cũng cho hiệu quả ức chế nấm *Colletotrichum* sp. và *F. solani*

cao ở nồng độ 30% khi được trích với dung môi ethanol 20°. Theo kết quả nghiên cứu của các tác giả trước đây cho thấy, trong lá trầu không chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học có thể dùng trong nhiều mục đích khác nhau gồm eugenol, carvacrol, chavicol, allylcatechol, chavibetol, cineol, estragol, methyl eugenol, p-cymen, caryophyllene, cadinen, tanin,... Trong đó, hợp chất methyl eugenol có tính kháng nấm rất tốt đồng thời giúp xua đuổi nhiều loại côn trùng gây hại cho cây trồng, hợp chất tanin có thể làm kết dính protein từ đó ảnh hưởng đến sự phát triển của vi sinh vật (Cowan, 1999). Mỗi loại dịch trích thực vật có các hoạt chất sinh học có khả năng kiểm soát nấm bệnh gây hại cây trồng như *Fusarium solani* và *Colletotrichum* sp. ở các mức độ khác nhau, trong đó dịch trích tỏi được chứng minh là có khả năng kiểm soát nấm bệnh tốt nhất, vì vậy các hoạt chất sinh học có gốc lưu huỳnh hữu cơ điển hình như aliin, allicin, ajoene, allylpropyl, diallyl, trisulfide, sallylcysteine, vinylidithiines, sallylmercaptocystein, Diallyl diosulfinate (DADS), Diallyl thiosulfinate (DATS) (Martins et al., 2016). Do đó, dịch trích tỏi kiểm soát nấm *Fusarium solani* và *Colletotrichum* sp. tốt hơn 3 loại dịch trích thực vật còn lại gồm lá trầu không, lá thu thảo và lá trúc đào.

Tóm lại, trong 4 loại dịch trích thực vật được khảo sát, dịch trích tỏi cho hiệu quả ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm bệnh tốt nhất ở nồng độ trích thấp nhất (10% dịch trích gốc) với HQUC đạt 100% và duy trì ổn định qua tất cả các thời điểm khảo sát. Do đó nghiệm thức dịch trích tỏi 10% được lựa chọn để thực hiện thí nghiệm đánh giá sự phát triển khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *F. solani* của các nồng độ dịch trích khác nhau ở điều kiện phòng thí nghiệm.

3.2. Đánh giá ảnh hưởng của các nồng độ dịch trích tỏi khác nhau lên khả năng ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm *F. solani* và *Colletotrichum* sp. ở điều kiện *in vitro*

Kết quả tuyển chọn nồng độ dịch trích tỏi có khả năng ức chế tốt nhất sự phát triển khuẩn ty nấm bệnh *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* được trình bày ở Bảng 2 cho thấy tất cả các nồng độ dịch trích tỏi khảo sát đều có khả năng ức chế sự phát triển khuẩn ty của 2 dòng nấm bệnh, dao động từ 22,1 đến 100% đối với nấm *Colletotrichum* sp. và từ 9,7 đến 100% đối với nấm *Fusarium solani* qua 4 thời điểm khảo sát. Trong đó, nghiệm thức xử lý dịch trích tỏi 10% cho hiệu quả ức chế sợi nấm đạt cao nhất với 100%, khác biệt ý nghĩa thống kê khi so sánh với các nghiệm thức còn lại ở mức ý nghĩa 5% ($p < 0,05$) ở tất cả các thời điểm khảo sát, đồng thời hiệu quả

ức chế khuẩn ty nấm tỉ lệ thuận với nồng độ dịch trích tỏi.

Cụ thể, nghiệm thức tỏi 10% ức chế hoàn toàn khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* và duy trì ở cả 4 thời điểm khảo sát với HQUC đạt 100% cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các nồng độ còn lại, dao động từ 22,1 đến 59,1% đối với dòng nấm *Colletotrichum* sp. và dao động từ 9,7 đến 61,3% đối với dòng nấm *F. solani* ($p < 0,05$). Bên cạnh đó, kết quả thí nghiệm còn cho thấy hiệu quả ức chế *Colletotrichum* sp. của các nghiệm thức có nồng độ từ 1% đến 9% tăng dần đến thời điểm 7 NSBT và sau đó giảm dần đến thời điểm 9 NSBT, trong khi hiệu quả ức chế của các nghiệm thức này lên sự phát triển khuẩn ty nấm *Fusarium solani* giảm dần theo thời gian kể từ thời điểm 1 NSBT.

Tóm lại, dịch trích từ củ tỏi có thể ức chế sự phát triển khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* ở nồng độ từ 1 đến 10%, đồng thời xử lý với 10% dịch trích tỏi ức chế hoàn toàn sự phát triển khuẩn ty của 2 dòng nấm gây bệnh cây trồng này. Điều này có thể là do trong dịch trích của các loại tỏi đều có chứa các hợp chất phức hợp, điển hình là allicin và có tác động đến vi sinh nên các hoạt chất này có thể đã tác động đến sự phát triển khuẩn lạc nấm *Fusarium solani* và *Colletotrichum* sp. trong nghiên cứu này. Theo Ankri & Mirelman (1999) allicin hoạt động khi tỏi tươi bị tác động bởi cơ chế nghiền và hoạt chất này có tác dụng kháng sinh mạnh. Kết quả nghiên cứu của Dania & Omidiora (2019) cho thấy việc sử dụng dịch trích tỏi ở nồng độ 50% kết hợp với 3 dòng vi sinh vật gồm nấm *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* và vi khuẩn *Bacillus subtilis* có hiệu quả ức chế nấm *Pythium aphanidermatum* gây bệnh chết cây con trên cà chua tốt hơn so với việc chỉ sử dụng các dòng vi khuẩn với hiệu quả ức chế dao động từ 77,6 đến 91,2% ở điều kiện nhà lưới và ngoài đồng tại Nigeria, tác giả cho rằng hoạt chất allicin đã giúp tăng cường hiệu lực kiểm soát nấm bệnh gây hại cây trồng (Obagwu & Korsten, 2003). Kết quả nghiên cứu của Sikanda et al. (2018) cho thấy, dịch trích tỏi của 28 giống tỏi có nguồn gốc từ Trung Quốc có khả năng ức chế tốt 4 loại nấm gây bệnh trên dưa leo *Cucumis sativus* gồm *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Verticillium dahliae* và *Phytophthora capsici*. Nghiệm thức xử lý với dịch trích tỏi ở nồng độ 10% cho hiệu quả kiểm soát khuẩn ty nấm *F. solani* và *Colletotrichum* sp. tốt nhất, do đó dịch trích tỏi với nồng độ 10% được tuyển chọn để thực hiện thí nghiệm đánh giá khả năng ức chế sự hình thành bào tử của 2 dòng nấm bệnh này trong môi trường PDB.

Bảng 2. Hiệu quả ức chế của dịch trích tỏi ở các nồng độ khác nhau đối với sự phát triển khuẩn ty nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani*

Nghiem thức	Hiệu quả ức chế (%)							
	<i>Colletotrichum</i> sp.				<i>Fusarium solani</i>			
	3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT	9 NSBT	1 NSBT	3 NSBT	5 NSBT	7 NSBT
Tỏi 1%	24,5 ^g	22,1 ^e	33,0 ^f	30,2 ^e	13,3 ^e	10,9 ^f	9,8 ^g	9,7 ^f
Tỏi 2%	26,4 ^g	24,2 ^e	30,7 ^g	28,3 ^e	28,0 ^d	21,8 ^e	14,6 ^f	15,0 ^{ef}
Tỏi 3%	35,2 ^f	41,2 ^d	46,6 ^e	43,4 ^d	28,0 ^d	23,8 ^e	17,7 ^f	20,8 ^{def}
Tỏi 4%	39,6 ^e	41,2 ^d	47,4 ^e	42,5 ^d	34,7 ^{cd}	32,7 ^d	26,6 ^e	26,6 ^{cd}
Tỏi 5%	39,6 ^e	39,7 ^d	47,7 ^e	44,3 ^d	44,0 ^{cd}	35,6 ^d	22,8 ^e	24,6 ^{def}
Tỏi 6%	43,4 ^d	47,1 ^c	50,8 ^d	51,9 ^c	42,7 ^{cd}	35,6 ^d	26,6 ^e	20,3 ^{def}
Tỏi 7%	45,3 ^c	48,5 ^c	54,9 ^c	52,3 ^c	46,7 ^{cd}	44,6 ^c	36,4 ^d	37,2 ^{bc}
Tỏi 8%	51,0 ^b	51,6 ^c	53,4 ^c	53,8 ^b	61,3 ^b	50,5 ^{bc}	43,0 ^c	42,5 ^{bc}
Tỏi 9%	52,8 ^b	52,8 ^b	59,1 ^b	54,7 ^b	61,3 ^b	52,5 ^{bc}	47,5 ^b	46,4 ^{bc}
Tỏi 10%	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a
F	*	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	1,50	1,45	1,47	1,53	1,72	1,68	1,35	1,95

Ghi chú: NSBT: ngày sau bố trí; (): khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5%. Trong cùng một cột các giá trị trung bình có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử Tukey's

3.3. Đánh giá ảnh hưởng của dịch trích tỏi lên khả năng ức chế sự hình thành bào tử nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani* trong môi trường PDB lỏng

Kết quả khảo sát khả năng ức chế hình thành bào tử nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên ớt của dịch trích từ củ tỏi nồng độ 10% trong môi trường nuôi cấy lỏng PDB được trình bày trong Hình 1 và Hình 2 cho thấy nghiệm thức xử lý dịch trích tỏi 10% cho hiệu quả ức chế hoàn toàn sự hình thành bào tử nấm *Colletotrichum* sp., khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức xử lý với thuốc hóa học và nghiệm thức đối chứng không xử lý ở tất cả các thời điểm khảo sát với mật số bào tử nấm ở nghiệm thức đối chứng dao động từ 5,71 đến 6,62 log(bào tử/mL), cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức xử lý thuốc hóa học và nghiệm thức xử lý với dịch trích tỏi 10% ($p < 0,05$). Nghiệm thức sử dụng thuốc hóa học hoạt chất Kresoxim-methyl 250 ppm có số bào tử dao động từ 5,18 đến 5,78 log(bào tử/mL), cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức xử lý dịch trích tỏi 10% khi mà không ghi nhận được sự hiện diện bào tử của dòng nấm này trong môi trường nuôi cấy ở các thời điểm khảo sát ($p < 0,05$). Điều này có thể là do trong dịch trích tỏi có chứa nhiều hoạt chất và enzyme có khả năng tác động, gây biến dạng, phân hủy hệ sợi và bào tử nấm, điển hình như allicin (diallyl thiosulfinate), các dẫn xuất S-allyl, hydroperoxide và enzyme allinase. Ở nhiều nghiên cứu, việc các hoạt chất này có khả năng tác động và

phân hủy vách tế bào đã được chứng minh, trong đó kết quả nghiên cứu của Perelló & Slusarenko (2013) đã ghi nhận được sự phân hủy và phát triển bất thường của bào tử và hệ sợi nấm *Bipolaris sorokiniana*, *Septoria tritici* và *Drechslera tritici* sau 72 giờ bố trí thí nghiệm, trong đó hiện tượng rách và vỡ bào tử nấm được ghi nhận với tỉ lệ cao. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu của Khan & Zhihui (2010) cho thấy allicin tác động lên bào tử nấm, đặc biệt là thành tế bào, những tác động này có cơ chế tương tự như một số loại thuốc hóa học trừ nấm (Hippe, 1991). Ngoài ra, Tariq & Magee (1990) đã quan sát được sự phá vỡ cấu trúc thành tế bào và vỏ bào tử nấm *Fusarium oxysporum* bởi dịch trích tỏi. Muhsin et al. (2001) cũng đã chứng minh cho thấy quá trình oxy hóa thành tế bào nấm *Candida* sp. bởi nhóm hoạt chất sulfhydryl có trong dịch trích tỏi. Một cơ chế khác của hoạt chất allicin là việc hình thành nên các “allicin-mediated lipid hydroperoxide”, một dẫn xuất của allicin bên trong màng tế bào của nấm, làm gia tăng áp suất thẩm thấu, phá vỡ cấu trúc vỏ của bào tử nấm, trong khi allinase làm nhiệm vụ phân hủy vách tế bào (Horev et al., 2009).

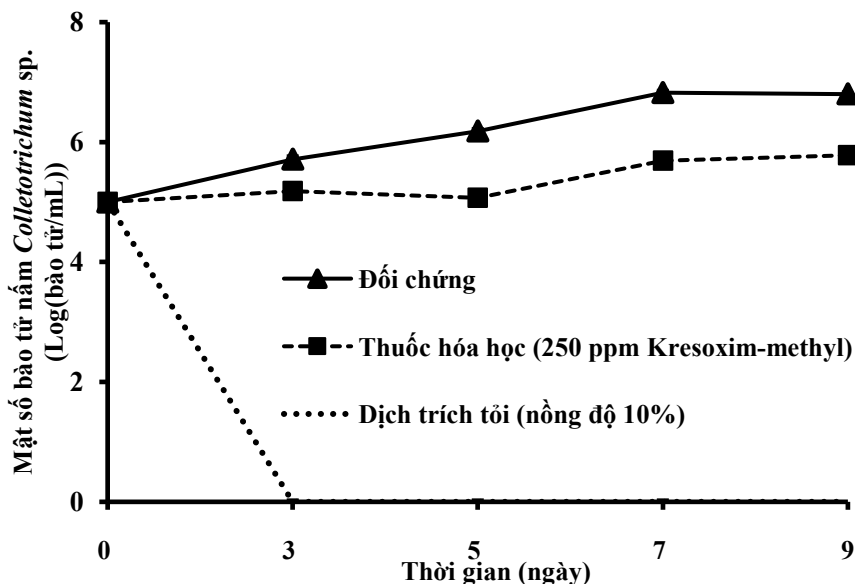
Kết quả đánh giá khả năng ức chế sự hình thành bào tử nấm *F. solani* của dịch trích tỏi 10% được trình bày ở Hình 3 cho thấy mật số bào tử nấm *F. solani* ở nghiệm thức đối chứng tăng theo thời gian bố trí thí nghiệm, dao động từ 5,33 đến 6,61 log(bào tử/mL), cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức thuốc hóa học và dịch trích tỏi 10% với

mật số lần lượt là 5,17 - 5,21 log(bào tử/mL) và 5,13 - 5,18 log(bào tử/mL) ($p < 0,05$). Đồng thời, mật số bào tử nấm *F. solani* ở nghiệm thức sử dụng dịch trích tỏi 10% và nghiệm thức xử lý thuốc hóa học khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi so sánh với nhau ($p > 0,05$). Bên cạnh đó, mật số nấm của 2 nghiệm thức này duy trì ổn định qua tất cả các thời điểm khảo sát, điều này cho thấy việc xử lý dịch trích tỏi ở nồng độ 10% cho hiệu quả ức chế cao đối với sự hình thành và phát triển bào tử nấm *F. solani* và hiệu quả tương đương với nghiệm thức xử lý thuốc hóa học có hoạt chất Kresoxim-methyl 250 ppm.

Ngoài ra hình ảnh ghi nhận thông qua quan sát dưới kính hiển vi quang học ở Hình 4 cho thấy bào tử nấm ở nghiệm thức xử lý dịch trích tỏi 10% ở thời điểm 9 NSBT không phát triển được để tạo sợi nấm trong khi nghiệm thức xử lý với thuốc hóa học hoạt chất Kresoxim-methyl 250 ppm cho thấy các sợi

nấm đang được hình thành với tốc độ chậm. Đồng thời ở nghiệm thức đối chứng vào thời điểm 9 NSBT cho thấy các bào tử nấm đã hình thành và phát triển thành các hệ sợi nấm phát triển dày đặc trong môi trường nuôi cấy lỏng. Điều đó chứng tỏ dịch trích tỏi ở nồng độ trích 10% cho hiệu quả ức chế hình thành và phát triển bào tử nấm bệnh một cách rất hiệu quả và tương đương với nghiệm thức xử lý thuốc hóa học.

Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu còn cho thấy hiệu quả kiểm soát bào tử nấm *Fusarium solani* bằng dịch trích tỏi 10% thấp hơn so với bào tử nấm *Colletotrichum* sp., kết quả này tương tự như nhiều nghiên cứu trước đây. Trong đó, kết quả nghiên cứu của Khairan & Jalil (2019) cho thấy hiệu quả ức chế nấm *Colletotrichum* sp. luôn cao hơn so với dòng nấm *Fusarium* sp. ở tất cả các nồng độ dịch trích tỏi khảo sát với dung môi là ethyl acetate 75%.



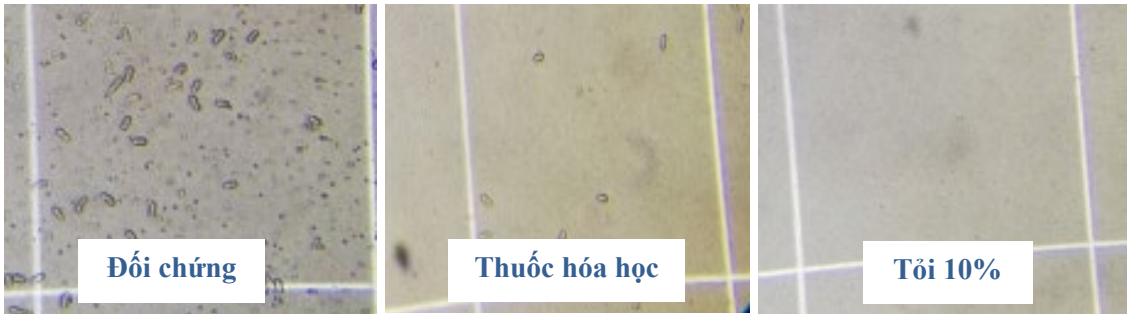
Hình 1. Mật số bào tử nấm *Colletotrichum* sp. trong môi trường PDB theo thời gian nuôi cấy

Như vậy, kết quả này chứng minh được rằng dịch trích tỏi ở nồng độ 10% cho hiệu quả ức chế hình thành và phát triển bào tử nấm bệnh *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá và thối rễ cây cam sành và *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên ớt một cách rất hiệu quả trong môi trường nuôi cấy PDB lỏng ở điều kiện phòng thí nghiệm. Điều này có thể là do trong củ tỏi giàu chất chống oxy hóa flavonoid (Pekowska & Skupien, 2009), chứa các hợp chất có ích trong việc kiểm soát nấm bệnh như: flavonoid, saponin và sapogenin, hợp chất pheolic, oxyde nito, amide và protein (Lanzotti et al., 2014). Ngoài ra, dịch trích tỏi được sử dụng trong thí

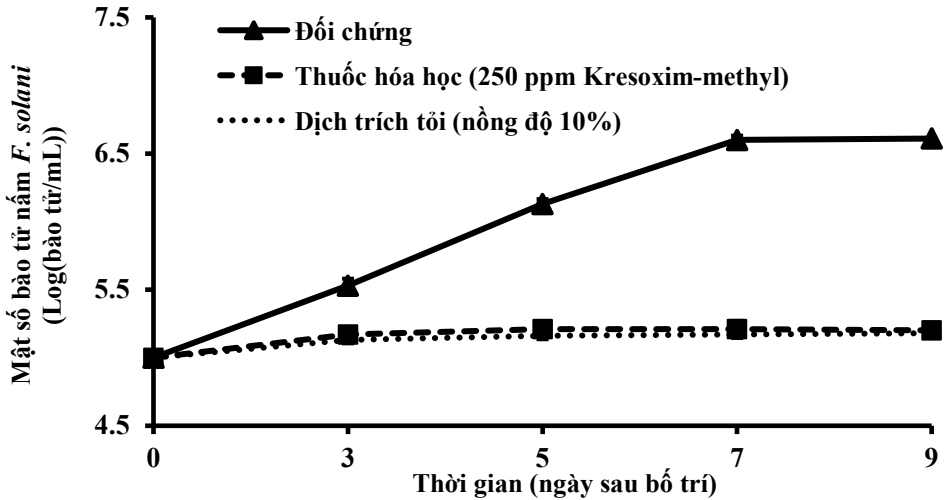
nghiệm được tạo ra bằng phương pháp ngâm dầm, phương pháp này tạo ra các hợp chất sulfua: S-alkyl cystein sulphoxid (alkyl: methyl; propyl; vinyl; allyl) và γ -glutamin- S- alkyl-L-cystein. Tỏi nguyên chất có chứa khoảng 1% alliin, chất này bị phân hủy bởi enzyme alliinase cho ra acid pyruvic và 2-proten sulphenric khi ta cắt nhỏ hoặc nghiền nát củ (alliin và alliinase tồn tại trong các tế bào riêng biệt của củ khi chưa bị nghiền). Chất 2-proten sulphenric ngay lập tức chuyển thành allicin và alliin cũng chuyển thành allicin và chất này có tác dụng chống nấm cực mạnh (Do et al., 2006). Thêm vào đó flavonoids, alkaloids, carbohydrates, tannins và glycosides

trong dịch trích tỏi khi được ly trích với dung môi gồm ethanol và nước đã được Kaur et al. (2021) chứng minh là có khả năng kiểm soát tốt mầm bệnh gây bệnh trên cây trồng. Do trong quá trình ly trích tỏi đã xảy ra quá trình nghiền nát sau đó ngâm trong

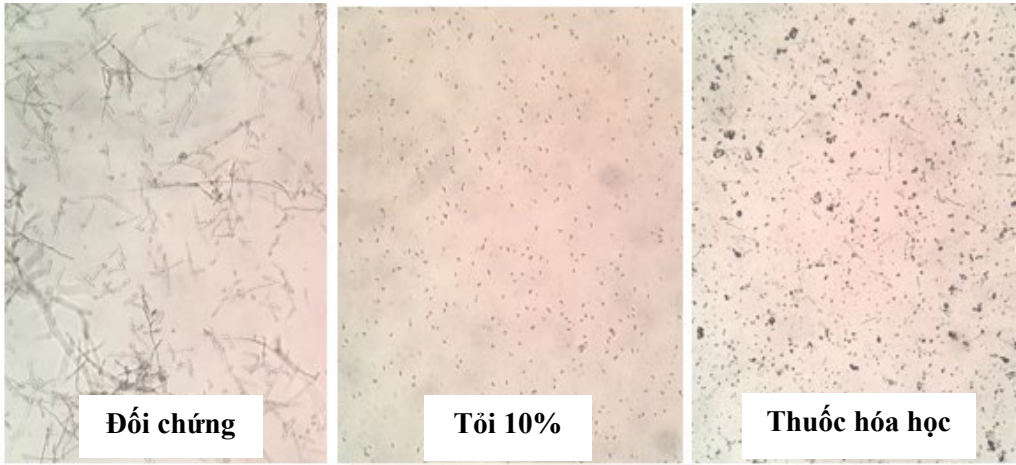
dung môi là ethanol 20° nên lượng allicin trong dịch trích tỏi rất lớn và điều này đã giúp giải thích về hiệu quả ức chế sự phát triển hệ sợi và bào tử nấm *Colletotrichum* sp. và *F. solani* của dịch trích tỏi ở nồng độ 10%.



Hình 2. Bào tử nấm *Colletotrichum* sp. trên buồng đếm hồng cầu Neubauer được quan sát dưới kính hiển vi vật kính 40X ở thời điểm 9 ngày sau bố trí



Hình 3. Mật số bào tử nấm *Fusarium solani* trong môi trường PDB theo thời gian nuôi cấy



Hình 4. Bào tử và hệ sợi nấm *Fusarium solani* được quan sát dưới kính hiển vi quang học ở vật kính 10X ở thời điểm 9 ngày sau bố trí

4. KẾT LUẬN

Bốn loại dịch trích thực vật gồm lá trúc đào, lá trầu không, thu thảo và củ tỏi có khả năng ức chế sự phát triển khuẩn ty của nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư ớt và *Fusarium solani* gây bệnh vàng lá thối rễ trên cây có mùi với hiệu suất ức chế dao động từ 1,4% đến 100%.

Việc xử lý dịch trích tỏi nồng độ 10% ức chế 100% sự phát triển của khuẩn ty và sự hình thành bào tử nấm *Colletotrichum* sp. và *Fusarium solani*

TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

- Ahmed, J. P., & Shivhare, U. S. (2001). Physico-chemical and storage characteristics of garlic paste. *Journal of Food Processing and Preservation*, 25(1), 15-23.
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2001.tb00440.x>
- Ankri, S., & Mirelman, D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*, 1(2), 125-129.
[https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(99\)80003-3](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(99)80003-3)
- Perelló, A., Gruhlke, M., & Slusarenko, A. J. (2013). Effect of garlic extract on seed germination, seedling health, and vigour of pathogen-infested wheat. *Journal of Plant Protection Research*, 53(4), 317-323.
<https://doi.org/10.2478/jppr-2013-0048>
- Ayazi, M. A. L., Kazemi, S., & Pourkhalili, S. (2011). Antibacterial activity of fresh juice of *Allium sativum* (garlic) against multi-drug resistant isolates of *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Microbiology Research*, 31(5), 5776-5779.
<https://doi.org/10.5897/AJMR11.1253>
- Bui, H. D. (2016). *Evaluation on the pathogenicity of Colletotrichum gloeosporioides causing postharvest disease on citrus fruit and controlling disease by leaf plant extracts* (Master's thesis). Can Tho University, Can Tho (in Vietnamese).
- Coppi, A., Cabinian, M., Mirelman, D., & Sinnis, P. (2006). Antimalarial activity of allicin, a biologically active compound from garlic cloves. *Antimicrobial Agents and chemotherapy*, 50(5), 1731-1737.
<https://doi.org/10.1128/AAC.50.5.1731-1737.2006>
- Corzo, M., Corzo, N., & Villamiel, M. (2007). Biological properties of onions and garlic. *Trends in Food Science & Technology*, 18(12), 609-625.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.07.011>
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiol Reviews*, 12(4), 564-582.
<https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>
- Dania, V. O., & Omidiora, J. A. (2019). Combination of biological control agents and garlic (*Allium sativum*) extract in reducing damping-off disease of tomato. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 44(3), 553-567.
<https://doi.org/10.3329/bjar.v44i3.43485>
- Do, H. B., Dang, Q. C., Bui, X. C., Nguyen, T. D., Do, T. D., Pham, V. H., Vu, N. L., Pham, M. D., Pham, M. K., Doan, N. T., Nguyen, T., & Tran, T. (2006). Medicinal plants and medicinal animals in Vietnam. *Science and Technics Publishing House*, 1, 884-887 (in Vietnamese).
- Edeoga, H. O., Okwu, D. E., & Mbaebie, B. O. (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4(7), 685-688.
<https://doi.org/10.5897/AJB2005.000-3127>
- Goetz, R. J. (1998). *Oleander-Indiana Plants Poisonous to Livestock and Pets*. Cooperative Extension Service, Purdue University.
- Harris, L. J., Daeschel, M. A., Stiles, M. E., & Klaenhammer, T. R. (1989). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 52(6), 384-387.
<https://doi.org/10.4315/0362-028X-52.6.384>
- Hayat, S., Cheng, Z., Ahmad, H., Ali, M., Chen, X., & Wang, M. (2016). Garlic, from remedy to stimulant: evaluation of antifungal potential reveals diversity in phytoalexin allicin content among garlic cultivars; allicin containing aqueous garlic extracts trigger antioxidants in cucumber. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1235.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01235>
- Hippe, S. (1991). Influence of fungicides on fungal structure. In: *Electron Microscopy of Plant Pathogens*. (Eds) Mendgen K, Lesemann D. Springer Verlag. Berlin pp.317-331.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-75818-8_24

- Ho, T. V. (2016). *Investigation on the pathogenicity anthracnose disease of banana nad controlling disease by plant extract* (Master's thesis). Can Tho University, Can Tho (in Vietnamese).
- Horev, A. L., Eliav, S., Izigov, N., Pri, S., Mirelman, D., Miron, T., Rabinkov, A., Wilchek, M., Jacob, J., Amariglio, N., & Savion, N. (2009). Allicin up-regulates cellular glutathione level in vascular endothelial cells. *Eur. J. Nutr.* 48, 67-74. <https://doi.org/10.1007/s00394-008-0762-3>
- Hussain, D., Iqbal, M., Arshad, N., Ullah, A., Javed, M. Y., Ahmad, S., Fatima, N., Din, N.U., Khalid, U., & Adeel, M. (2023). Efficacy assessment of garlic extract as a natural aphid control agent on infected tomato plants. *Journal of Oasis Agriculture and Sustainable Development*, 5(4), 27-31. <https://doi.org/10.56027/JOASD.222023>
- Kaur, R., Tiwari, A., Manish, M., Maurya, I. K., Bhatnagar, R., & Singh, S. (2021). Common garlic (*Allium sativum* L.) has potent Anti-Bacillus anthracis activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 264, 113230. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113230>
- Khairan, K., & Jalil, Z. (2019). Green synthesis of sulphur nanoparticles using aqueous garlic extract (*Allium sativum*). *Rasayan Journal of Chemistry*, 12(1). <https://doi.org/10.31788/RJC.2019.1214073>
- Khan, S., Khan, R., Hussain, S., Zaman, A., Ahmad, K., Ali, R., Din, N., & Fawad, M. (2022). Eco-friendly management strategy against fusarium wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* (SACC.). *Pakistan Journal of Weed Science Research*, 28(4), 479.
- Khan, M. A., & Zhihui, C. H. (2010). Influence of garlic root exudates on cytomorphological alteration of the hyphae of *Phytophthora capsici*. The cause of Phytophthora blight in pepper. *Pak. J. Bot.* 42(6),4356-4361.
- Lanzotti, V., Scala, F., & Bonanomi, G. (2014). Compounds from *Allium* species with cytotoxic and antimicrobial activity. *Phytochemistry Reviews*, 13, 769-791. <https://doi.org/10.1007/s11101-014-9366-0>
- Lee, J., Chandra, K., & Singh, S. V. (2013). Critical role for reactive oxygen species in apoptosis induction and cell migration inhibition by diallyl trisulfide, a cancer chemopreventive component of garlic. *Breast Cancer Research and Treatment*, 138(1), 69-79. <https://doi.org/10.1007/s10549-013-2440-2>
- Martins, N., Petropoulos, S., & Ferreira, I. C. (2016). Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review. *Food Chemistry*, 211, 41-50. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.029>
- Monika, P., Chandrababha, M. N., & Murthy, K. C. (2023). Catechin, epicatechin, curcumin, garlic, pomegranate peel and neem extracts of Indian origin showed enhanced anti-inflammatory potential in human primary acute and chronic wound derived fibroblasts by decreasing TGF- β and TNF- α expression. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 181-186. <https://doi.org/10.1186/s12906-023-03993-y>
- Mougou, I., & Boughalleb, N. (2018). Biocontrol of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* affecting citrus orchards in Tunisia by using indigenous *Bacillus* spp. and garlic extract. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28(1), 60. <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0061-0>
- Mundada, S., & Shivhare, R. (2010). Pharmacology of *Tridax procumbens* a weed. *Int J Pharm Tech Res*, 2(2), 1391-1394.
- Muhsin, T. M., Zubaidy, S. R., & Ali, E. T. (2001). Effect of garlic bulb extract on the growth and enzymatic activities of rhizosphere and rhizoplane fungi. *Mycopathologia*, 152, 143-146. <https://doi.org/10.1023/A:1013184613159>
- Nguyen, C. T. T., & Pham, O. H. (2002). *Citrus pests and their management in Viet Nam*. Agricultural Publishing House. HaNoi. 258 (in Vietnamese).
- Nguyen. T. T., & Nguyen, H. V. (2018). The use of biological products from *Nerium oleander* for wood preservation. *TNU Journal of Science and Technology*, 180(04), 153-157 (in Vietnamese).
- Obagwu, J., & Korsten, L. (2003). Control of citrus green and blue molds with garlic extracts. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 221-225. <https://doi.org/10.1023/A:1022839921289>
- Patel, R. M., & Jasrai, Y. T. (2013). Evaluation of Fungitoxic Potency of *Piper betle* L. (Mysore variety) Leaf Extracts Against Eleven Phyto Pathogenic Fungal Strains. *Cibtech Journal of Bio-Protocols*, 2(2), 21-28.
- Pekowska, E., & Skupien, K. (2009). The influence of selected agronomic practices on the yield and chemical composition of winter garlic. *Vegetable Crops Res. Bull.* 70, 173-182. <https://doi.org/10.2478/v10032-009-0017-8>
- Phan, T. T. (2005). *Investigation of the current status of Tristeza disease, Greening disease and root rot disease on citrus trees in the Cuu Long River Delta* (Master's thesis). Ho Chi Minh City University of Agriculture and Forestry, Ho Chi Minh (in Vietnamese).
- Rana, S. V., Pal, R., Vaiphei, K., Sharma, S. K., & Ola, R. P. (2011). Garlic in health and disease. *Nutrition Research Reviews*, 24(1), 60-71. <https://doi.org/10.1017/S0954422410000338>

- Recinella, L., Libero, M. L., Citi, V., Chiavaroli, A., Martelli, A., Foligni, R., Mannozi, C., Acquaviva, A., Simone, S.D., Calderone, V., Orlando, G., Ferrante, C., Veschi, S., Piro, A., Menghini, L., Brunetti, L., & Leone, S. (2023). Anti-inflammatory and vasorelaxant effects induced by an aqueous aged black garlic extract supplemented with vitamins D, C, and B12 on Cardiovascular System. *Foods*, 12(7), 1558. <https://doi.org/10.3390/foods12071558>
- Sikandar, H., Ahmad, H., Ali, M., Kashif, H., Khan, M. A., Cheng, Z., Smith, F., Gilles, M. A., & Hamilton, J. K. (2018) Aqueous garlic extract as a plant biostimulant enhances physiology, improves crop quality and metabolite abundance, and primes the defense responses of receiver plants. *Appl Sci*, 8,1505. <https://doi.org/10.3390/app8091505>
- Swami, C. S., & Alane, S. K. (2013). Efficacy of some botanicals against seed-borne fungi of green gram (*Phaseolus aureus* Roxb.). *Bioscience Discovery*, 4(1), 107-110.
- Tariq, V. N., & MaGee, A. C. (1990). Effect of volatiles from garlic extraction on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Mycol. Res.* 94,617-620. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80662-X](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80662-X)
- Tasiwal, V., Benagi, V., Hegde, Y.R., Kamanna, B., & Naik, K. R. (2009). In vitro evaluation of botanicals, bioagents and fungicides against anthracnose of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 22(4), 803-806.
- Vo, C. V. (2004). *Plant dictionary*. Science and Technics Publishing House. HaNoi. 2698 (in Vietnamese)
- Wallock, D., Doherty, C. J., Doherty, L., Clarke, D. J., Place, M., Govan, J. R., & Campopiano, D. J. (2014). Garlic revisited: antimicrobial activity of allicin-containing garlic extracts against *Burkholderia cepacia* complex. *PLoS One*, 9(12), e112726. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112726>