

HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM *Fusarium incarnatum* GÂY BỆNH THỐI TRÁI THANH LONG SAU THU HOẠCH CỦA CAO DỊCH CHIẾT RAU NGỔ (*Enhydra fluctuans* L.)

Nguyễn Trung Trục^{1,*}, Nguyễn Lê Yến Nhi¹

¹ Khoa Sinh hóa - Thực phẩm, Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long

*Email: trucnt@vlute.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập, định danh tác nhân nấm gây bệnh, đồng thời đánh giá hoạt tính kháng nấm của cao dịch chiết rau ngổ (CDCRN) đối với nấm *Fusarium* gây bệnh thối trái thanh long sau thu hoạch. Kết quả phân lập từ các mẫu trái thanh long nhiễm bệnh cho thấy, chủng nấm TL1 có đặc điểm hình thái điển hình của chi *Fusarium*. Phân tích trình tự vùng gen ITS cho thấy, chủng TL1 có độ tương đồng 100% với các trình tự của loài *F. incarnatum* được công bố trên cơ sở dữ liệu GenBank, qua đó cho phép định danh chủng TL1 ở cấp loài là *F. incarnatum*. Bên cạnh đó, CDCRN thể hiện khả năng ức chế sự sinh trưởng của nấm *F. incarnatum* trong điều kiện *in vitro*. Sự phát triển của sợi nấm bị ức chế hoàn toàn ở nồng độ 700 µg/mL, trong khi sự nảy mầm của bào tử bị ức chế hoàn toàn ở nồng độ 5.000 µg/mL. Hoạt tính kháng nấm (HTKN) tăng theo nồng độ của cao dịch chiết, thể hiện qua sự suy giảm đáng kể đường kính khuẩn lạc và mật độ bào tử trên môi trường PDA. Kết quả nghiên cứu cho thấy, CDCRN có tiềm năng ứng dụng như một tác nhân kháng nấm tự nhiên có nguồn gốc thực vật, an toàn và thân thiện với môi trường trong bảo quản thanh long sau thu hoạch, góp phần giảm sự phụ thuộc vào thuốc bảo vệ thực vật có nguồn hóa học.

Từ khóa: Bệnh thối trái, cao dịch chiết rau ngổ, *Fusarium incarnatum*, thanh long.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thanh long ruột đỏ (*Hylocereus costaricensis*) là một loại trái cây nhiệt đới nổi bật với hình dạng đặc trưng và màu sắc rực rỡ, nhờ đó được ưa chuộng trong chế biến món tráng miệng và nhiều sản phẩm ẩm thực khác. Trái thanh long có hương vị chua ngọt dễ chịu và giá trị dinh dưỡng cao, chứa các vitamin thiết yếu như: Vitamin C, B1, B2, B3, cùng với các khoáng chất quan trọng bao gồm phospho, sắt, canxi, protein và chất xơ. Ngoài ra, thanh long còn giàu các hợp chất hoạt tính sinh học và chất chống oxy hóa như: Axit phenolic, flavonoid, betalain và carotenoid. Những đặc tính có lợi cho sức khỏe này đã góp phần đưa thanh long trở thành một cây trồng thương mại quan trọng tại nhiều quốc gia nhiệt đới trong đó có Việt Nam [1]. Tuy nhiên, thanh long có thời gian bảo quản ngắn, chủ yếu do sự phát sinh các bệnh hại sau thu hoạch. Các nghiên cứu

đã ghi nhận, có nhiều loài nấm gây ra bệnh khác nhau trên thanh long, trong đó phổ biến là bệnh thán thư do *Colletotrichum* sp. và bệnh thối trái do *Bipolaris cactivora* và *Fusarium* sp. gây ra [2]. Quả bị nhiễm bệnh thường bắt đầu với các đốm màu nâu nhạt hoặc sẫm màu trên bề mặt vỏ quả. Các đốm này nhanh chóng tạo thành vùng thối mềm, ẩm ướt, lan rộng và làm hư hỏng toàn bộ quả, dẫn đến giảm giá trị cảm quan, khó bảo quản và gây tổn thất lớn cho nông dân cũng như doanh nghiệp xuất khẩu.

Hiện nay, thuốc bảo vệ thực vật có nguồn gốc hóa học chứa các hoạt chất như: Benomyl, carbendazim, propineb, difenoconazole, mancozeb và prochloraz vẫn được sử dụng phổ biến trong kiểm soát các bệnh nấm hại trên thanh long [3]. Tuy nhiên, việc sử dụng kéo dài các loại thuốc này có thể dẫn đến sự đột biến của nấm và hình thành tính kháng thuốc. Bên cạnh đó, dư lượng thuốc

bảo vệ thực vật trên trái tươi tiềm ẩn nhiều nguy cơ đối với sức khỏe con người và môi trường [4]. Đáng lo ngại hơn, nấm *Fusarium* sp. đã biểu hiện khả năng kháng nhiều loại thuốc diệt nấm như difenoconazole và tebuconazole [5]. Trước những hạn chế đó, xu hướng nghiên cứu gần đây tập trung vào các giải pháp an toàn sinh học và thân thiện với môi trường để kiểm soát thiệt hại sau thu hoạch do nấm gây ra, trong đó việc sử dụng dịch chiết thực vật có chứa các hợp chất kháng nấm sinh học. Các nghiên cứu gần đây khẳng định, dịch chiết thực vật có hiệu quả rõ rệt trong kiểm soát nấm *Fusarium* liên quan đến bệnh sau thu hoạch, thông qua cơ chế ức chế sinh trưởng sợi nấm, hạn chế nảy mầm bào tử và gây tổn thương cấu trúc tế bào nấm. Nghiên cứu của Kursa và cs (2022) [6] cho thấy, dịch chiết từ cây xô thơm (*Salvia officinalis* L.) và cúc ngải vàng (*Tanacetum vulgare* L.) đạt hiệu quả ức chế cao đối với nhiều loài *Fusarium* gây bệnh trên ngũ cốc, trong đó hoạt tính kháng nấm có mối liên hệ chặt chẽ với hàm lượng polyphenol, flavonoid và khả năng chống oxy hóa cao. Ở điều kiện *in vivo*, kết quả nghiên cứu của Seepe và cs (2020) [7] ghi nhận, các dịch chiết từ cây xoan (*Melia azedarach*), hỏa châu (*Combretum erythrophyllum*) và sồi tầm (*Quercus acutissima*) kiểm soát hiệu quả *Fusarium* gây bệnh trên hạt bắp, với mức ức chế tối đa lên đến 97% mà không gây ảnh hưởng bất lợi đáng kể đến khả năng nảy mầm của hạt. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu của Sales và cs (2016) [8] trên bệnh sau thu hoạch gây ra bởi các loài *Fusarium* ở dứa cho thấy, các dịch chiết từ lô hội (*Aloe vera*), tỏi (*Allium sativum*) và cam thảo (*Glycyrrhiza glabra*) có hiệu quả phòng và trị bệnh tương đương thuốc trừ nấm hóa học trong một số nghiệm thức. Tổng hợp các kết quả này cho thấy, dịch chiết thực vật là giải pháp đầy tiềm năng, an toàn và thân thiện môi trường trong quản lý nấm *Fusarium* sau thu hoạch, đồng thời mở ra hướng phát triển các chế phẩm sinh học thay thế thuốc hóa học truyền thống.

Các nghiên cứu trước đây báo cáo rằng, dịch chiết từ rau ngổ có hàm lượng phenolic cao và có hiệu quả kháng khuẩn đáng kể đối với nhiều chủng vi khuẩn gây bệnh như: *Staphylococcus*

aureus, *Staphylococcus saprophyticus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Bacillus cereus*, *Shigella shiga* và *Shigella dysenteriae* [9 - 11]. Tuy nhiên, ảnh hưởng của CDCRN đến sự phát triển của nấm gây bệnh trên trái cây sau thu hoạch chưa được nghiên cứu, đặc biệt là nấm *Fusarium* gây bệnh thối trái thanh long. Mục tiêu của nghiên cứu này là phân lập, định danh và khảo sát hoạt tính kháng nấm của CDCRN đối với nấm *Fusarium* gây bệnh thối trái trên trái thanh long ruột đỏ sau thu hoạch.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Quả thanh long có triệu chứng bệnh được thu nhận tại chợ thuộc phường Long Châu, tỉnh Vĩnh Long. Mẫu quả bệnh với các đặc điểm như: Vết thối trên bề mặt trái có dạng gần tròn hoặc hình dạng bất định, những vòng tròn đồng tâm màu nâu đậm, ở giữa tâm có màu nâu đỏ, mọng nước và thối rữa, vết bệnh có mùi hôi khó chịu. Sau khi thu thập, các mẫu bệnh được vận chuyển về phòng thí nghiệm để tiến hành phân lập và xác định tác nhân nấm gây bệnh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập và định danh sơ bộ nấm gây bệnh trên quả thanh long

Những quả thanh long nhiễm bệnh được rửa bằng nước sạch, để ráo và khử trùng bề mặt bằng cồn 70 độ nhằm loại bỏ bụi bẩn và tiêu diệt vi sinh vật trên bề mặt quả. Quy trình phân lập nấm được thực hiện theo phương pháp của Singh và cs (2023) [12] với một số điều chỉnh. Tại vị trí có triệu chứng bệnh trên trái thanh long, dùng dao vô trùng cắt thành từng miếng nhỏ có kích thước 1 x 1 cm. Các mẫu vừa cắt được nhúng vào dung dịch nước javen 1% trong 3 phút. Sau đó, mẫu được rửa lại với nước cất vô trùng 3 lần và thấm khô bằng giấy vô trùng. Tiếp theo, mẫu được đặt vào đĩa petri có chứa môi trường PDA (Potato Dextrose Agar) và ủ mẫu ở nhiệt độ 25 - 30°C trong 3 - 4 ngày. Sự phát triển của nấm được quan sát và ghi nhận dựa trên hình dạng và màu sắc khuẩn lạc. Tiếp đến, lựa chọn những khuẩn lạc đặc trưng và chuyển khối thạch có sợi nấm sang đĩa có chứa môi trường PDA mới. Nấm bệnh được cấy truyền nhiều lần trên môi trường PDA cho đến khi thu

được chủng nấm thuần. Cuối cùng, tiến hành quan sát hình thái sợi nấm và bào tử nấm dưới kính hiển vi quang học.

2.2.2. Lây nhiễm nhân tạo nấm gây bệnh trên trái thanh long

Để xác định khả năng gây bệnh của các chủng nấm phân lập được, thí nghiệm lây nhiễm được tiến hành trên trái thanh long khỏe mạnh theo quy trình có điều chỉnh dựa trên phương pháp được mô tả bởi Marin và cs (1996) [13]. Cụ thể, những trái thanh long đồng đều về kích thước, không có vết thương cơ học hay dấu hiệu nhiễm bệnh được rửa sạch nhiều lần dưới vòi nước chảy, sau đó khử trùng bề mặt bằng cách nhúng vào dung dịch cồn 70° trong 1 phút, tiếp theo rửa lại với nước cất vô trùng 3 lần và để khô tự nhiên. Tiếp theo, vỏ trái được tạo vết thương nhỏ (sâu khoảng 2 mm, đường kính 4 mm) bằng dao cấy vô trùng, sau đó đặt một khoanh thạch PDA (đường kính 4 mm) có chứa khuẩn ty nấm bệnh đã được làm thuần lên vị trí vết thương. Mẫu đối chứng được xử lý tương tự, nhưng thay khoanh thạch nấm bệnh bằng khoanh thạch PDA vô trùng. Các trái sau khi lây nhiễm được đặt trong hộp nhựa kín có lót giấy thấm ẩm để duy trì độ ẩm cao và được ủ ở nhiệt độ phòng trong bóng tối. Sau 7 ngày, tiến hành quan sát, ghi nhận các triệu chứng bệnh và phân lập lại nấm từ các vết bệnh theo định đề Koch.

*2.2.3. Phương pháp định danh nấm *Fusarium* sp. bằng kỹ thuật PCR*

Sau khi lây nhiễm, chủng nấm TL1 được định danh bằng phương pháp giải trình tự vùng ITS (Internal Transcribed Spacer). ADN của nấm gây bệnh được tách chiết theo quy trình của Trần Nhân Dũng (2011) [14]. Tiếp theo, vùng ITS của nấm được khuếch đại thông qua phản ứng PCR sử dụng cặp mồi ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' và ITS4: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' [15]. Phản ứng PCR được thực hiện trong tổng thể tích 25 µL, bao gồm các thành phần sau: 8,5 µL nước cất hai lần (BiH₂O), 12,5 µL hỗn hợp gồm dung dịch đệm PCR (PCR Buffer 10X), dNTPs (với nồng độ 200 µM), MgCl₂ (nồng độ 1,5 mM), enzyme *Taq* ADN polymerase (2,5 UI), 2,0 µL ADN khuôn (40 ng), 1,0 µL mồi xuôi ITS1 (20

pmol) và 1,0 µL mồi ngược ITS4 (20 pmol). Sản phẩm PCR thu được (600 bp) được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5%, sau đó được gửi đến Công ty TNHH DNA SEQUENCING (thành phố Cần Thơ) để tiến hành giải trình tự.

2.2.4. Phương pháp thu mẫu và tách chiết dịch chiết rau ngổ

Rau ngổ (*Enhydra fluctuans* L.) được lựa chọn ở xã Long Hồ, tỉnh Vĩnh Long trong giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng ổn định, cây phát triển khỏe mạnh, không có biểu hiện sâu, bệnh, không dập nát hay nhiễm bẩn cơ học. Mẫu thu gồm toàn bộ phần trên mặt đất của cây (thân và lá), có màu xanh tự nhiên, không xuất hiện các dấu hiệu vàng úa, thối rữa hoặc nhiễm nấm. Rau ngổ được thu hái vào buổi sáng, trong điều kiện thời tiết khô ráo, nhằm hạn chế sự suy giảm chất lượng và hàm lượng hợp chất sinh học. Sau khi thu mẫu, nguyên liệu được rửa sạch bằng nước để loại bỏ đất cát và tạp chất, để ráo trước khi tiến hành các bước xử lý và chiết xuất. Quá trình chiết xuất được thực hiện theo phương pháp mô tả bởi Gholamnezhad (2019) [16], có hiệu chỉnh cho phù hợp với điều kiện thí nghiệm. Nguyên liệu sau thu hoạch được làm khô bằng phương pháp sấy không khí nóng ở 60°C trong 24 giờ, sau đó được nghiền mịn và rây qua lưới có kích thước mắt rây 0,2 cm. Phần bột lọt qua rây được sử dụng cho quá trình chiết xuất. 50 g bột rau ngổ được trộn với 500 mL dung môi ethanol 45% (v/v), sau đó hỗn hợp được khuấy ở tốc độ thấp bằng máy khuấy từ tại nhiệt độ phòng trong 4 giờ. Tiếp theo, hỗn hợp được ly tâm ở tốc độ 5.000 × g trong 10 phút để thu dịch chiết thô. Dung môi trong dịch chiết sau đó được loại bỏ bằng thiết bị cô quay chân không ở nhiệt độ 45°C với tốc độ quay 100 vòng/phút. Phần CDCRN thu được được bảo quản ở 4°C cho đến khi sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2.5. Khảo sát hiệu quả ức chế nấm bệnh của dịch chiết rau ngổ

Khả năng ức chế nấm bệnh của CDCRN được đánh giá bằng hai phương pháp: Ủ chế sợi nấm và ủ chế bào tử, dựa theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Trung Trực và cs (2025) [17] có hiệu chỉnh. Đối với phương pháp ủ chế sợi nấm, các

khối nấm bệnh (đường kính 4 mm) được cắt từ đĩa nấm thuần 5 ngày tuổi và đặt vào trung tâm đĩa petri chứa môi trường PDA đã bổ sung CDCRN ở các nồng độ: 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000 µg/mL. CDCRN được pha từ dung dịch stock 10 mg/mL bằng nước cất vô trùng, trong khi mẫu đối chứng chỉ chứa nước cất khử trùng. Các đĩa được ủ ở $28 \pm 2^\circ\text{C}$ trong 6 ngày và đo đường kính tán nấm để tính hoạt tính kháng nấm (HTKN) theo công thức:

$$\text{HTKN (\%)} = [(R - r)/R] \times 100$$

Trong đó: R là đường kính tán nấm ở mẫu đối chứng và r là đường kính tán nấm ở mẫu có dịch trích. Đối với phương pháp ức chế bào tử, huyền phù bào tử (10^6 bào tử/mL) được trải lên môi trường PDA có bổ sung dịch trích rau ngổ ở các nồng độ: 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000 µg/mL; các đĩa đối chứng chỉ chứa nước cất vô trùng. Sau khi ủ ở $25 - 30^\circ\text{C}$ trong 24 giờ, quan sát sự phát triển của bào tử.

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

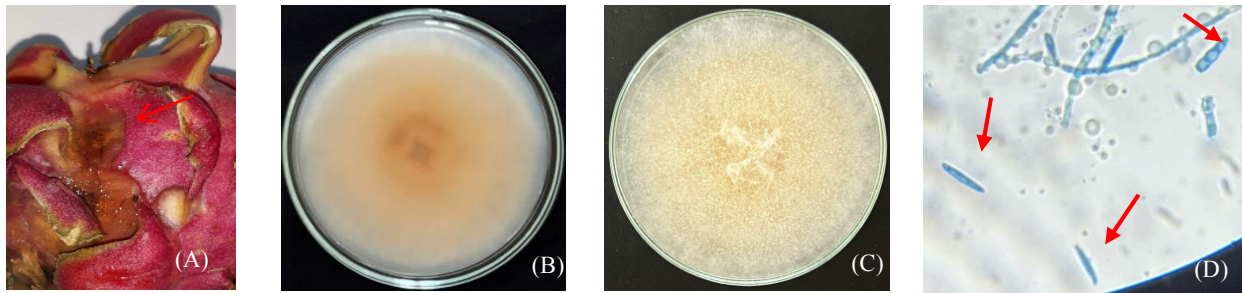
Dữ liệu thu nhận từ thí nghiệm được phân tích phương sai (ANOVA) một nhân tố (kiểm định Tukey, độ tin cậy 95%) bằng phần mềm Statgraphics 19. Công cụ BLASTn được sử dụng để so sánh sự tương đồng trình tự vùng gen ITS

của chủng nấm phân lập được với cơ sở dữ liệu gen (GeneBank).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập nấm *Fusarium*

Từ mẫu quả thanh long có biểu hiện bệnh, chủng nấm TL1 đã được phân lập thành công. Trên môi trường PDA, khuẩn lạc của chủng TL1 phát triển theo dạng vòng tròn, đạt đường kính khoảng 30 mm sau 3 ngày nuôi cấy. Sau 7 ngày nuôi cấy, khuẩn lạc có màu trắng ngà đến cam nhạt, hệ sợi nấm phát triển dày, dạng bông xốp, với khuẩn ty khí sinh phát triển mạnh và nhô cao ở vùng trung tâm đĩa, trong khi khuẩn ty thưa hơn và thấp dần về phía rìa khuẩn lạc. Quan sát dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 40X cho thấy, khuẩn ty có vách ngăn và phân nhánh rõ rệt. Cuống bào tử được hình thành từ sợi nấm và có hiện tượng phân nhánh. Hệ bào tử gồm: Đại bào tử kích thước lớn, hình lưới liềm, đầu nhọn, gốc hơi tù, chứa 3 - 5 vách ngăn và tiểu bào tử kích thước nhỏ, hình bầu dục hoặc hình cầu, không vách hoặc chỉ có một vách ngăn. Dựa trên các đặc điểm hình thái khuẩn lạc và vi thể nêu trên, chủng nấm TL1 được xác định thuộc chi *Fusarium*, phù hợp với các mô tả đã được công bố bởi Singh và cs (2023) [12].



Hình 1. Kết quả phân lập nấm TL1 trên môi trường PDA

A: Trái thanh long nhiễm bệnh, B: Mặt sau đĩa nấm sau 7 ngày, C: Mặt trước đĩa nấm sau 7 ngày, D: bào tử nấm khi quan sát trên kính hiển vi vật kính 40X

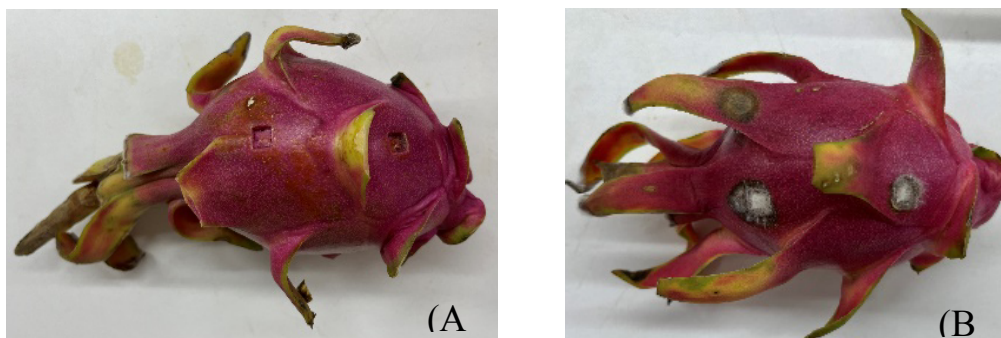
3.2. Kết quả khả năng lây nhiễm và giải trình tự của chủng nấm TL1

Thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo được thực hiện nhằm đánh giá khả năng gây bệnh của chủng nấm TL1 trên trái thanh long khỏe mạnh. Ở nghiệm thức đối chứng, sau 6 ngày cấy mẫu thạch PDA, râu thanh long chuyển vàng nhẹ và vỏ trái có

dấu hiệu hư hại tự nhiên, tuy nhiên mức độ không đáng kể. Việc rửa trái bằng dung dịch cồn trước khi tiến hành thí nghiệm giúp hạn chế đáng kể sự phát triển của nấm mốc. Trong khi đó, ở nghiệm thức được lây nhiễm nhân tạo bằng chủng TL1, các vết bệnh xuất hiện tại vị trí lây bệnh ban đầu dưới dạng đốm đen nhỏ, hơi lõm, có nhiều chấm li

ti và lan nhanh sang các mô khỏe. Trên bề mặt vết bệnh hình thành các sợi nấm mảnh màu trắng. Sau 6 ngày, vùng bệnh lan rộng rõ rệt, cho thấy chủng TL1 có khả năng xâm nhiễm mạnh, phân hủy mô vỏ và sử dụng nguồn dinh dưỡng từ trái để sinh trưởng. Đặc điểm hình thái của vết bệnh tương

đồng với mẫu nấm được phân lập ban đầu, khẳng định TL1 thuộc chi *Fusarium* là tác nhân gây hại có tốc độ phát triển nhanh trên trái thanh long sau thu hoạch. Từ kết quả trên cho thấy, đặc điểm hình thái của chủng nấm mốc tái phân lập này tương đồng với chủng *Fusarium* ban đầu.

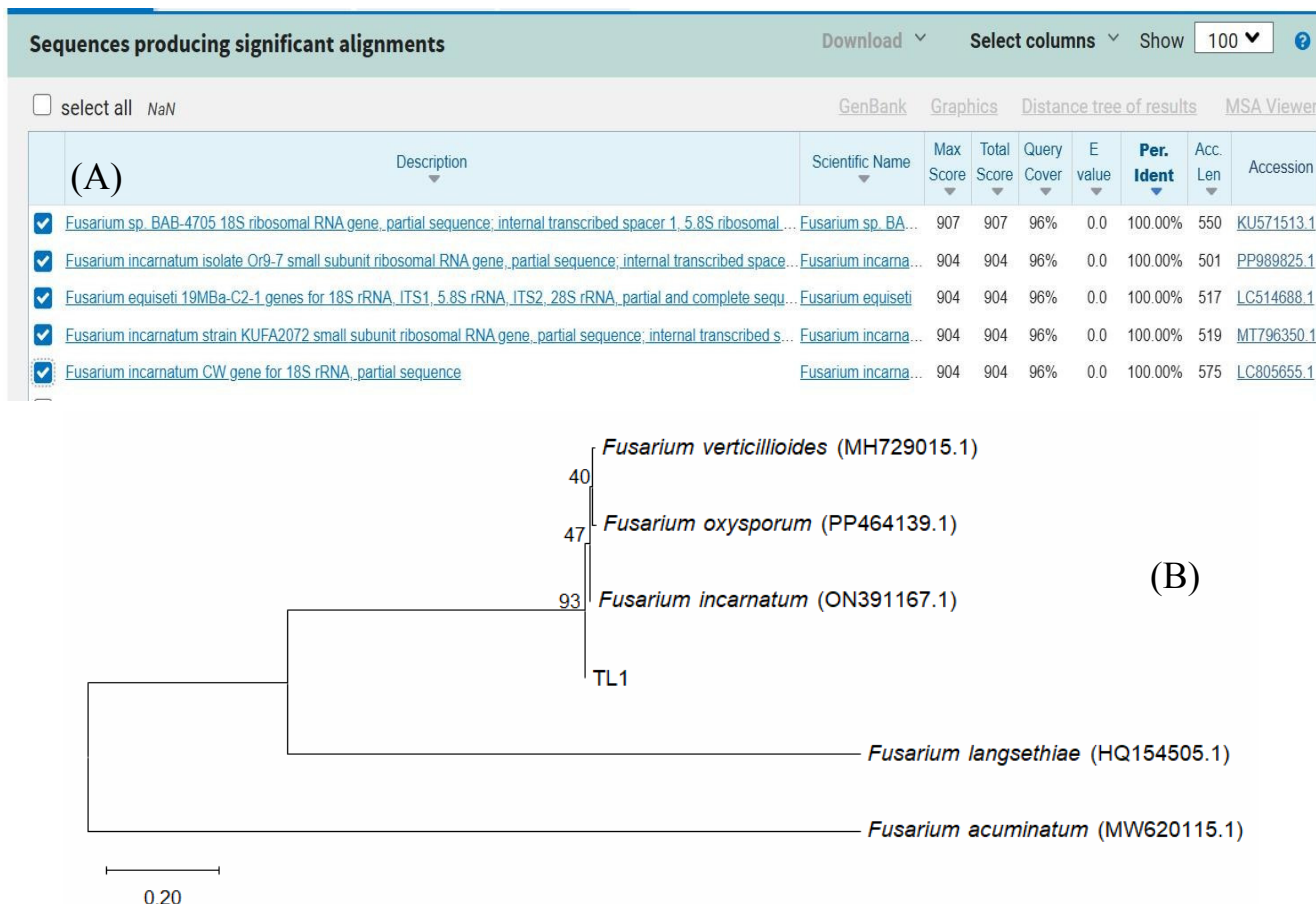


Hình 2. Kết quả 6 ngày lây nhiễm nhân tạo chủng nấm *Fusarium*

A: Đối chứng, B: Nấm *Fusarium*

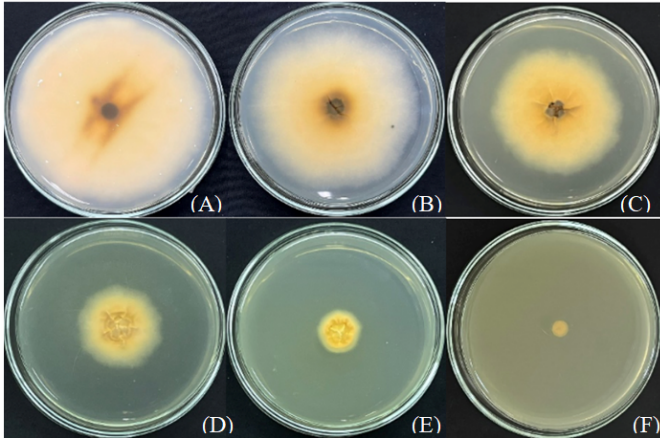
Kết quả giải trình tự của chủng nấm TL1 phân lập trong nghiên cứu được giải trình và cho kết quả tương đồng 100% với các loài *Fusarium*

inacartum và *Fusarium equiseti* (Hình 3) trên ngân hàng gene.



Hình 3. A. Kết quả so sánh trình tự gen trên ngân hàng gen; B. Kết quả phân tích cây phả hệ của chủng nấm TL1 với các loài *Fusarium*

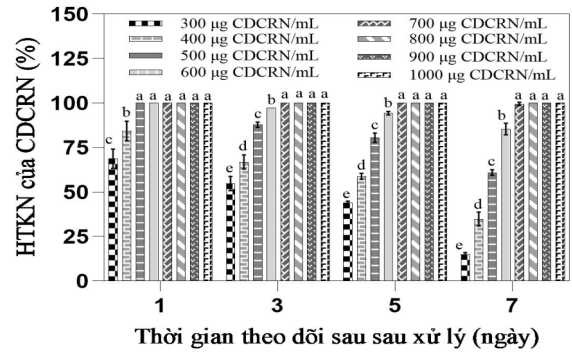
3.3. Hiệu quả ức chế của CDCRN đối với sợi nấm *Fusarium inacartum*



Hình 4. Kết quả kháng nấm *Fusarium inacartum* của CDCRN trên môi trường PDA (ngày 7)

A: Đĩa đối chứng; B: Nồng độ 300 µg/mL; C: Nồng độ 400 µg/mL; D: Nồng độ 500 µg/mL; E: Nồng độ 600 µg/mL; F: Nồng độ 700 µg/mL

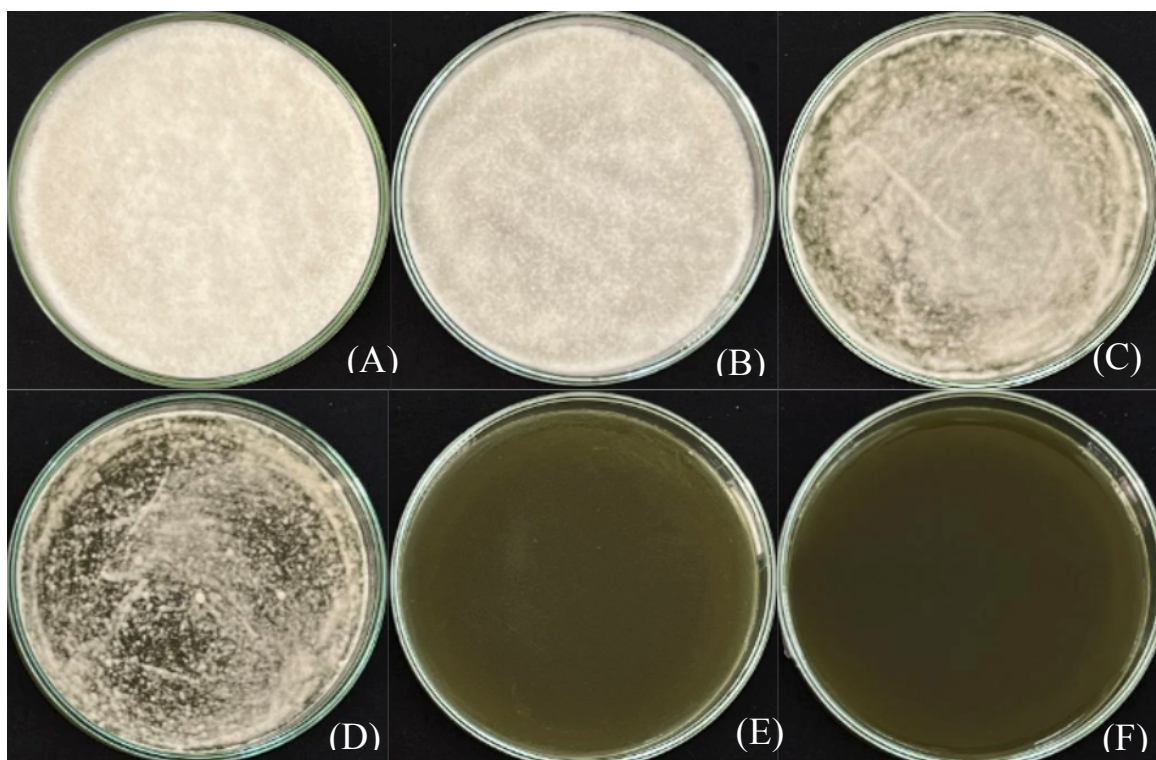
Kết quả ở hình 4 cho thấy, CDCRN có khả năng ức chế mạnh sự sinh trưởng của sợi nấm *Fusarium inacartum* (chủng TL1) theo xu hướng phụ thuộc nồng độ. Ở các nồng độ thấp (300 - 600 µg/mL), sự phát triển của sợi nấm bị ức chế đáng kể, thể hiện qua sự suy giảm dần đường kính khuẩn lạc khi nồng độ của cao dịch chiết tăng. Sự ức chế hoàn toàn sự sinh trưởng của sợi nấm được ghi nhận ở các nồng độ 700 - 1.000 µg/mL, khi khuẩn lạc không có sự gia tăng kích thước so với thời điểm ban đầu cấy. Ở ngày đầu nuôi cấy, đường kính khuẩn lạc đối chứng đạt khoảng 4 mm, trong khi sự phát triển của nấm bị trì hoãn rõ rệt tại nồng độ 300 µg/mL và gần như bị ngừng hoàn toàn ở nồng độ lớn hơn 700 µg/mL. Sau 7 ngày nuôi cấy, khuẩn lạc đối chứng phát triển bình thường với đường kính trung bình khoảng 68 mm, đặc trưng bởi hệ sợi màu trắng, phát triển dày. Ngược lại, đường kính khuẩn lạc giảm đáng kể theo mức tăng nồng độ CDCRN, đạt khoảng 17 mm tại nồng độ 600 µg/mL, nơi bắt đầu ghi nhận sự phá vỡ cấu trúc tản nấm. Ở nồng độ 700 µg/mL, sự sinh trưởng của sợi nấm bị ức chế hoàn toàn, với kích thước khuẩn lạc không thay đổi trong suốt thời gian nuôi cấy. Những kết quả này khẳng định, CDCRN có hoạt tính kháng nấm mạnh đối với *Fusarium inacartum*, với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) được xác định là 700 µg/mL (Hình 4).



Hình 5. HTKN của CDCRN đối với nấm *Fusarium inacartum* ở các nồng độ khác nhau

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một nhóm thể hiện sự khác biệt ý nghĩa 5% với kiểm định LSD. Giá trị thể hiện trung bình ± độ lệch chuẩn.

HTKN của CDCRN ở các nồng độ khác nhau (300 - 1.000 µg/mL) được đánh giá trong thời gian theo dõi 1, 3, 5, 7 ngày sau xử lý (Hình 5). Kết quả cho thấy, HTKN phụ thuộc rõ rệt vào nồng độ CDCRN và thời gian theo dõi. Ở ngày thứ 1, CDCRN thể hiện hiệu quả kháng nấm tăng dần theo nồng độ. Các nồng độ cao từ 600 - 1.000 µg/mL đạt hiệu quả ức chế gần như hoàn toàn và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức này. Trong khi đó, các nồng độ thấp hơn (300 - 500 µg/mL) cho hiệu quả kháng nấm thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$). Sau 3 ngày xử lý, xu hướng tương tự vẫn được ghi nhận. Hoạt tính kháng nấm của các nghiệm thức 700 - 1000 µg/mL vẫn duy trì ở mức cao, trong khi các nồng độ 300 - 500 µg/mL bắt đầu suy giảm hiệu quả so với ngày đầu, đặc biệt ở nồng độ 300 µg/mL. Đến ngày thứ 5, sự khác biệt giữa các nồng độ trở nên rõ rệt hơn. HTKN của CDCRN ở nồng độ thấp (300 - 400 µg/mL) giảm mạnh, chỉ còn khoảng 40 - 60%, trong khi các nồng độ từ 600 µg/mL trở lên vẫn duy trì hiệu quả ức chế nấm ở mức cao ($> 90\%$) và không khác biệt có ý nghĩa thống kê. Sau 7 ngày theo dõi, HTKN của CDCRN ở nồng độ 300 µg/mL giảm xuống mức rất thấp ($< 20\%$). Các nồng độ trung bình (400 - 500 µg/mL) cũng ghi nhận sự suy giảm đáng kể. Ngược lại, CDCRN ở nồng độ ≥ 700 µg/mL vẫn duy trì hiệu quả kháng nấm gần như hoàn toàn (95 - 100%), cho thấy khả năng ổn định và tác dụng kéo dài của chế phẩm ở nồng độ cao.



Hình 6. Kết quả kháng bào tử nấm *Fusarium inocartum* của CDCRN trên môi trường PDA (ngày 4)

A: Đĩa đối chứng, B: Nồng độ 1.000 µg/mL, C: Nồng độ 2.000 µg/mL, D: Nồng độ 3.000 µg/mL, E: Nồng độ 4.000 µg/mL, F: Nồng độ 5.000 µg/mL

Tương tự, CDCRN cũng cho thấy hiệu quả ức chế rõ rệt khả năng nảy mầm của bào tử nấm *Fusarium inocartum*. Kết quả khảo sát cho thấy, sau 3 ngày nuôi cấy trên môi trường thạch PDA, bào tử nấm ở nghiệm thức đối chứng nảy mầm mạnh và phát triển thành hệ sợi nấm rõ rệt, trong khi sự nảy mầm và phát triển của sợi nấm bị ức chế đáng kể ở các nghiệm thức có bổ sung CDCRN. Ở nồng độ 2.000 µg/mL, bào tử nấm vẫn có khả năng nảy mầm, tuy nhiên sự phát triển của sợi nấm bị suy giảm rõ rệt và giảm dần theo chiều hướng tăng nồng độ của cao dịch chiết. Tại nồng độ 5.000 µg/mL, CDCRN ức chế hoàn toàn sự nảy mầm của bào tử nấm *F. inocartum*, không ghi nhận sự hình thành sợi nấm (Hình 6). Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng, các hợp chất phenolic từ dịch chiết thực vật có tác dụng như những tác nhân sinh học kháng vi sinh vật nhằm ức chế sự phát triển của các tác nhân gây bệnh trên trái cây sau thu hoạch. Các hợp chất tự nhiên này có hoạt tính kháng nấm mạnh, có khả năng làm phá vỡ cấu trúc màng tế bào nấm và ức chế quá trình nảy mầm của bào tử. Theo Nguyen và cs (2021) [18],

nhiều hợp chất phenolic và các chất chuyển hóa thứ cấp trong dịch chiết thực vật có khả năng làm suy giảm tính toàn vẹn của thành tế bào nấm, ức chế sự nảy mầm của bào tử và can thiệp vào hoạt động của các enzyme gây bệnh. Bên cạnh đó, các hợp chất phenolic còn hoạt động như những chất chống oxy hóa, giúp làm giảm stress oxy hóa và qua đó tăng cường các cơ chế phòng vệ tự nhiên của quả. Các hợp chất phenolic cũng có khả năng tạo phức (chelating) với các ion kim loại thiết yếu cho quá trình trao đổi chất của nấm hoặc ức chế các enzyme then chốt liên quan đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm [19]. Kết quả của nghiên cứu này phản ánh tác động ức chế của CDCRN ở mức độ *in vitro* đối với sợi nấm và bào tử của nấm *F. inocartum* gây bệnh thối trái thanh long sau thu hoạch. Những kết quả bước đầu cho thấy, CDCRN có tiềm năng được tiếp tục nghiên cứu và phát triển như một tác nhân kháng nấm có nguồn gốc tự nhiên, góp phần định hướng thay thế hoặc bổ trợ cho các thuốc trừ nấm tổng hợp. Cách tiếp cận này phù hợp với xu hướng toàn cầu trong quản lý dịch hại bền vững, ưu tiên các

giải pháp thân thiện với môi trường, an toàn cho người sử dụng và hạn chế tồn dư hóa chất trên nông sản [20].

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân lập và định danh thành công nấm *F. inacartum* gây bệnh thối trái trên thanh long sau thu hoạch dựa trên sự kết hợp giữa đặc điểm hình thái và phân tích trình tự vùng gen ITS, đồng thời khẳng định khả năng gây bệnh của chủng nấm này thông qua thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo theo định đề Koch. CDCRN thể hiện hoạt tính kháng nấm mạnh và phụ thuộc nồng độ, trong đó sự sinh trưởng của sợi nấm bị ức chế hoàn toàn ở nồng độ $\geq 700 \mu\text{g/mL}$ và sự nảy mầm của bào tử bị ức chế hoàn toàn ở nồng độ $5.000 \mu\text{g/mL}$. Đáng chú ý, ở các nồng độ cao, CDCRN duy trì hiệu quả kháng nấm ổn định trong suốt thời gian theo dõi. Kết quả cho thấy, CDCRN có tiềm năng ứng dụng như một tác nhân kháng nấm tự nhiên, an toàn và thân thiện với môi trường trong bảo quản thanh long sau thu hoạch, góp phần giảm sự phụ thuộc vào các thuốc trừ nấm hóa học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Wong, Y. M., Siow, L. F. (2015). Effects of heat, pH, antioxidant, agitation and light on betacyanin stability using red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice and concentrate as models. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5): 3086 - 3092.
2. Balendres, M. A., Mendoza, J. C. (2019). Diseases of dragon fruit (*Hylocereus species*): Etiology and current management options. *Crop protection*, 126, 104920.
3. Ali, A., Zahid, N., Manickam, S., Siddiqui, Y., Alderson, P. G., Maqbool, M. (2013). Effectiveness of submicron chitosan dispersions in controlling anthracnose and maintaining quality of dragon fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 147 - 153.
4. Shi, X. C., Wang, S. Y., Duan, X. C., Wang, Y. Z., Liu, F. Q., Laborda, P. (2021). Biocontrol strategies for the management of *Colletotrichum* species in postharvest fruits. *Crop protection*, 141, 105454.
5. Zhao, J., Huang, M. (2023). Characterization and *in vitro* fungicide sensitivity of two *Fusarium* spp. associated with stem rot of dragon fruit in Guizhou, China. *Journal of Fungi*, 9(12): 1 - 11.
6. Kurs, W., Jamiołkowska, A., Wyrostek, J., Kowalski, R. (2022). Antifungal effect of plant extracts on the growth of the cereal pathogen *Fusarium* spp. - An *in vitro* study. *Agronomy*, 12, 1 - 18.
7. Seepe, H. A., Lodama, K. E., Sutherland, R., Nxumalo, W., Amoo, S. O. (2020). *In vivo* antifungal activity of South African medicinal plant extracts against *Fusarium* pathogens and their phytotoxicity evaluation. *Plants*, 9, 1 - 18.
8. Sales, M. D. C., Costa, H. B., Fernandes, P. M. B., Ventura, J. A., Meira, D. D. (2016). Antifungal activity of plant extracts with potential to control plant pathogens in pineapple. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(1): 26 - 31.
9. Khue, D. B., Tuan, P. M., Quan, N. V., Oanh, D. T. B. (2013). Total phenolic content and anti-oxidant capacity of some spices and herbs grown in Vietnam. *Journal of Postharvest Technology*, 01(01): 022 - 028.
10. Ahmad, T., Kamruzzaman, M., Islam, M. M., Hasanuzzaman, M., Ahmed, A., Paul, D. K. (2016). *In vitro* antimicrobial activity of different extracts of long pepper (*Piper longum*) and water cress (*Enhydra fluctuans*) against different pathogenic bacterial strains. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 4(3): 241 - 247.
11. Amin, M. R., Mondol, R., Habib, M. R., Hossain, M. T. (2012). Antimicrobial and cytotoxic activity of three bitter plant-*Enhydra fluctuans*, *Andrographis peniculata* and *Clerodendrum viscosum*. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2(2): 207 - 211.
12. Singh, A. R., Sharma, S. K., Dayal, V., Dutta, S. K., Singh, S. B., Phurailatpam, S., Boopathi, T., Singson, L., Saha, S., Irungbam, P., Thokchom, S., Nongtdo, E. (2023). *Fusarium* equiseti as the pathogen causing stem rot disease of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in India. *Crop protection*, 173, 106380.

13. Marin, D. H., Sutton, T. B., Blankenship, S. M., Swallow, W. H. (1996). Pathogenicity of fungi associated with crown rot of bananas in Latin America on Grande Naine and disease-resistant hybrid bananas. *Plant disease*, 80(5): 525 - 528.
14. Trần Nhân Dũng (2011). *Sổ tay thực hành sinh học phân tử*. Nxb Đại học Cần Thơ.
15. White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: A guide to methods and applications*, 18(1): 315 - 322.
16. Gholamnezhad, J. (2019). Effect of plant extracts on activity of some defense enzymes of apple fruit in interaction with *Botrytis cinerea*. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(1): 115 - 123.
17. Nguyễn Trung Trực, Quách Văn Cao Thi và Nguyễn Thị Như Huỳnh (2025). Ảnh hưởng của
- dịch chiết xơ dừa đến khả năng ức chế nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên trái đu đủ (*Carica papaya* L.) sau thu hoạch. *Tạp chí Nông nghiệp và Môi trường*, 1(7): 33 - 42.
18. Nguyen, T. H., Pham, L. D., Bui, A. V. (2021). Antifungal properties of plant-based extracts against postharvest pathogens in tropical fruits. *Journal of Plant Protection Research*, 61(2): 134 - 142.
19. Hajji-Hedfi, L., Rhouma, A., Hlaoua, W., Dmitry, K. E., Jaouadi, R., Zaouali, Y., Rebouh, N. Y. (2024). Phytochemical characterization of forest leaves extracts and evaluation of their antifungal activity against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Alternaria alternata*. *Scientific Reports*, 14, 1 - 18.
20. Singh, R., Sharma, P., Kumar, S. (2019). Plant extracts as natural fungicides: A review. *Agricultural Reviews*, 40(3): 200 - 208.

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF *Enhydra fluctuans* L. EXTRACT AGAINST *Fusarium incarnatum* CAUSING POSTHARVEST FRUIT ROT OF DRAGON FRUIT

Nguyen Trung Truc¹, Nguyen Le Yen Nhi¹

¹*Faculty of Biochemistry and Food Technology,
Vinh Long University of Technology Education*

Abstract

This study was conducted to isolate and identify the fungal pathogen causing disease and to evaluate the antifungal activity of the *Enhydra fluctuans* L. extract against *Fusarium*, the causal agent of postharvest fruit rot in dragon fruit. Isolation from diseased dragon fruit samples revealed that strain TL1 exhibited morphological characteristics typical of the genus *Fusarium*. Sequence analysis of the internal transcribed spacer (ITS) region showed that strain TL1 shared 100% sequence similarity with published *F. incarnatum* sequences in the GenBank database. In addition, *Enhydra fluctuans* L. extract exhibited inhibitory effects on the growth of *F. incarnatum* under *in vitro* conditions. Complete inhibition of mycelial growth was observed at a concentration of 700 µg/mL, whereas spore germination was completely suppressed at 5,000 mg/mL. Antifungal activity increased in a concentration-dependent manner, as evidenced by a significant reduction in colony diameter and spore density on PDA medium. These findings indicate that *Enhydra fluctuans* L. extract has potential for application as a plant-derived, environmentally friendly, and safe natural antifungal agent for postharvest preservation of dragon fruit, contributing to a reduced reliance on synthetic chemical fungicides.

Keywords: Fruit's rot, *Enhydra fluctuans* L. extract, *Fusarium incarnatum*, dragon fruit.

Ngày nhận bài: 3/11/2025

Ngày chuyển phản biện: 10/11/2025

Ngày thông qua phản biện: 30/12/2025

Ngày duyệt đăng: 9/01/2026